

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
«Σχολή Γεωπονικών Επιστημών»
«Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής & Αγροτικού
Περιβάλλοντος»
«ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ»
Τεχνολογίες και Διαχείριση Θερμοκηπίων και Θερμοκηπιακών
Καλλιεργειών

Εργαστήριο Ζιζανιολογίας

«ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ»

**«Φυσιολογικές αποκρίσεις βασιλικού ανεπτυγμένου σε σύστημα
ενυδρειοπονίας εργαστηριακής κλίμακας»**



ΓΕΡΜΑΝΗ ΡΑΦΑΗΛΙΑ

Βόλος, 2021

**«Φυσιολογικές αποκρίσεις βασιλικού ανεπτυγμένου σε σύστημα ενυδρειοπονίας
εργαστηριακής κλίμακας»**

Γερμάνη Ραφαηλία

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Λεβίζου Ευθυμία, Επίκουρη Καθηγήτρια Φυσιολογίας Φυτών, Τμήμα Γεωπονίας
Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας,
Επιβλέπουσα Καθηγήτρια.

Κατσούλας Νικόλαος, Καθηγητής, Γεωργικές κατασκευές με έμφαση στα
θερμοκήπια, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Μέλος

Λύκας Χρήστος, Επίκουρος Καθηγητής, Ανθοκομίας και Αρχιτεκτονικής Τοπίου,
Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας, Μέλος

Copyright © *Γερμάνη Ραφαηλία Κρυσταλλία, 2020.*

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας διατριβής, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης.

Η έγκριση της Μεταπτυχιακής Διατριβής Ειδίκευσης από το Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δε δηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών με τίτλο «Τεχνολογίες και Διαχείριση Θερμοκηπίων και Θερμοκηπιακών Καλλιιεργειών» του Τμήματος Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Το θέμα της μεταπτυχιακής διατριβής ήταν «Φυσιολογικές αποκρίσεις βασιλικού ανεπτυγμένου σε σύστημα ενυδρειοπονίας εργαστηριακής κλίμακας»

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα της μεταπτυχιακής διατριβής μου Επίκουρη Καθηγήτρια κα. Λεβίζου Ευθυμία, για την υποστήριξη και τις υποδείξεις της καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της μεταπτυχιακής μου διατριβής, καθώς και για την ευκαιρία που μου έδωσε να αποκτήσω καινούργιες εμπειρίες και να ασχοληθώ με ένα καινούργιο αντικείμενο. Επιπλέον, θα ήθελα να την ευχαριστήσω για το γεγονός ότι πίστεψε σε μένα και στις δυνατότητές μου. Επίσης, ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή Καθηγητή κ. Κατσούλα, για το χρόνο που αφιέρωσε και για την καθοδήγηση του στην πορεία του μεταπτυχιακού προγράμματος αλλά και τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Λύκα, για τη συμμετοχή τους στην αξιολόγηση της εργασίας αυτής.

Θα ήταν παράληψή μου να μην ευχαριστήσω από καρδιάς την υποψήφια διδάκτορα και συνοδοιπόρο του πειράματος κ. Τσουμαλάκου Ευαγγελία για την πολύτιμη συνεργασία και καθοδήγηση της στο πείραμα αλλά και την υποψήφια διδάκτορα του Τμήματος Γεωπονίας Ιχθυολογίας και Υδάτινου Περιβάλλοντος, κ. Σταθοπούλου Παρασκευή για την βοήθειά της κατά τις δύσκολες μέρες του πειράματος.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω ολόψυχα τη μητέρα μου για την αδιάκοπη στήριξη της και φυσικά τον άνθρωπό μου, που με εμπιστεύτηκε και δε σταμάτησε να με στηρίζει και να με βοηθά με οποιοδήποτε τρόπο.

Εγώ, η Γερμάνη Ραφαηλία-Κρυσταλλία, είμαι η συγγραφέας αυτής της Μ.Δ.Ε. Αυτή η Μ.Δ.Ε. αντικατοπτρίζει την έρευνα που έγινε από εμένα και δεν έχει υποβληθεί (εξ ολοκλήρου ή μέρος της) σαν προπτυχιακή διατριβή ή Μ.Δ.Ε. ή ως μέρος Διδακτορικής Διατριβής σε αυτό ή άλλο Προπτυχιακό ή Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών Ιδρυμάτων Τριτοβάθμιας Εκπαίδευσης του εσωτερικού ή εξωτερικού. Όποια συνεργασία καθώς και το μέγεθος αυτής δηλώνονται επακριβώς στο αντίστοιχο πεδίο αυτής της διατριβής. Επίσης, έχω διαβάσει όλες τις βιβλιογραφικές αναφορές που παρατίθενται στο τέλος.

Η Συγγραφέας

Ως επιβλέπουσα της έρευνας που περιγράφεται σε αυτή τη διατριβή, δηλώνω ότι όλοι οι όροι του Εσωτερικού Κανονισμού του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος έχουν τηρηθεί από την κα. Γερμάνη Ραφαηλία-Κρυσταλλία.

Η Επιβλέπουσα Καθηγήτρια

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα έρευνα φυτά βασιλικού αναπτύχθηκαν σε ενυδρειοπονικό σύστημα εργαστηριακής κλίμακας με ταυτόχρονη εκτροφή ιχθύων του γένους *Tilapia*. Κύριος σκοπός ήταν η διερεύνηση και η αξιολόγηση της επίδρασης δυο διαφορετικών τροφών σίτισης τόσο στην ανάπτυξη όσο και στη φυσιολογία των φυτών. Σε ένα ενυδρειοπονικό σύστημα, η πλειοψηφία των θρεπτικών που είναι υπεύθυνα για την ανάπτυξη των φυτών προέρχεται από τα απόβλητα της τροφής των υδρόβιων οργανισμών. Ωστόσο, στα συστήματα αυτά, συχνά παρατηρείται έλλειψη κάποιων μικροστοιχείων όπως ο σίδηρος λόγω χαμηλών συγκεντρώσεων του στις εμπορικές ζωοτροφές. Επομένως, προκειμένου να εξασφαλιστεί η βέλτιστη απόδοση του φυτού, διερευνήθηκε η χορήγηση ιχθυοτροφής με 30% προσθήκης αεροξηραμένου υπέργειου μέρους τσουκνίδας, όπου σύμφωνα με έρευνες τα φύλλα της είναι πλούσια σε θρεπτικά όπως, σίδηρος, ασβέστιο και κάλιο ενώ παράλληλα φαίνεται να έχει ευεργετικές ιδιότητες τόσο στο αναπνευστικό όσο και στο ανοσοποιητικό σύστημα των ψαριών. Κατά την πειραματική διαδικασία τα φυτά διαχωρίστηκαν σε δυο διαφορετικές μεταχειρίσεις ανάλογα με την ιχθυοτροφή που χορηγούνταν στους ιχθύες. Το παρόν πείραμα διεξήχθη σε εγκαταστάσεις του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και διήρκεσε 60 ημέρες, ενώ την 30^η ημέρα πραγματοποιήθηκε κοπή του υπέργειου τμήματος στο τρίτο ζεύγος κλάδων ώστε να εκτιμηθεί αναβλάστηση των φυτών. Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος λήφθηκαν μετρήσεις που αφορούσαν τη μορφολογία αλλά την ενδεχόμενη κατάπονηση που μπορεί τα φυτά να βίωναν. Στη τελική συλλογή καταγράφηκαν αναπτυξιακά χαρακτηριστικά των φυτών, ενώ μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις ολικών φαινολικών στα φύλλα και στις ρίζες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι στις αρχικές μετρήσεις το ύψος των φυτών διέφερε μεταξύ των μεταχειρίσεων με μεγαλύτερες να λαμβάνουν τα φυτά στα συστήματα με ιχθυοτροφή εμπλουτισμένη κατά 30% με τσουκνίδα, ενώ έπειτα από την πρώτη κοπή παρατηρήθηκε αύξηση του αριθμού των πλάγιων κλάδων χωρίς όμως στατιστικές διαφορές. Επιπλέον, παρατηρήθηκαν διαφορές ως προς το ξηρό βάρος μεταξύ των μεταχειρίσεων, όπου τα φυτά των συστημάτων με την τροφή control παρουσίασαν μικρότερη βιομάζα. Τέλος, δεν καταγράφηκαν διαφορές στη συγκέντρωση των χλωροφυλλών ούτε στη φωτοχημική απόδοση του PSII μεταξύ των δυο μεταχειρίσεων. Ωστόσο, δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία από άλλες έρευνες σχετικά με την επίδραση ιχθυοτροφών εμπλουτισμένων με

τσουκνίδα σε φυτά βασιλικού για να γίνουν οι απαραίτητες συγκρίσεις και έτσι το συγκεκριμένο αντικείμενο είναι *πεδίο δόξης λαμπρόν για νέες έρευνες*.

SUMMARY

In the present study, basil plants were grown in a laboratory-scale aquaculture system with simultaneous rearing of fish of the genus *Tilapia*. The main purpose was to investigate and evaluate the effect of two different fish-feeds on both the growth and physiology of plants. In an aquaponic system, most of the nutrients that are responsible for plant growth come from the food waste of aquatic organisms. However, in these systems, there is often a lack of some micronutrients such as iron due to its low concentrations in commercial feed. Therefore, in order to ensure the optimal yield of the plant, a fish feed with 30% addition of air-dried aboveground nettle was investigated, where according to research its leaves are rich in nutrients such as iron, calcium and potassium while at the same time it seems to have beneficial properties in the respiratory and immune systems of fish. During the experimental process the plants were separated into two different treatments depending on the fish feed. The present experiment was carried out in facilities of the University of Thessaly and lasted 60 days, while on the 30th day the aboveground section was cut in the third pair of branches to assess plant regeneration. Throughout the experiment, measurements were taken regarding the morphology but the potential stress that the plants may have experienced. In the final harvest, growth characteristics of the plants were recorded, while the concentrations of total phenolics in the leaves and roots were measured. The results showed that in the initial measurements of the plants' height differed between the treatments with larger ones receiving the plants in the fish feed systems enriched by 30% with nettle, while after the first cutting there was an increase in the number of lateral branches but without statistical differences. In addition, differences in dry weight were observed between treatments, where the plants of the food control systems showed lower biomass. Finally, no differences were recorded in the chlorophyll concentration or in the photochemical efficiency of PSII between the two treatments. However, there is insufficient data from other research on the effect of nettle-enriched fish feed on basil plants to make the necessary comparisons and so this subject is a shining field of glory for new research.

Περιεχόμενα

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ	12
1.1 Γενικά	12
1.2 Υδροπονία.....	13
1.3 Υδατοκαλλιέργεια	14
1.4 Ενυδρειοπονία	16
1.4.1 Λειτουργία ενυδρειοπονικού συστήματος.....	18
1.4.2 Περιγραφή ενυδρειοπονικών συστημάτων	20
1.5 Ενυδρειοπονία και κατάπονηση	22
2.Σκοπός	24
3. Υλικά και Μέθοδοι	25
3.1 Περιγραφή πειράματος.....	25
3.2 Περιγραφή και λειτουργία των συστημάτων ενυδρειοπονίας ..	26
3.3Προετοιμασία ενυδρειοπονικού συστήματος	29
3.4 Κάλυψη θρεπτικών αναγκών των φυτών στο ενυδρειοπονικό σύστημα.....	31
3.5 Μετρήσεις.....	33
3.5.1 Αναπτυξιακές	33
3.5.2 Προσδιορισμός χλωροφυλλών	33
3.6 Φυσιολογικές.....	35
3.7 Ολικά φαινοτικά	37
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	40
4.1. Ενδιάμεσες μετρήσεις	40
4.1.1Μορφολογικές – αναπτυξιακές μετρήσεις	40
4.1.2 Φυσιολογικές μετρήσεις	43
4.2 Τελικές μετρήσεις	48
4.2.1 Μορφολογικές – αναπτυξιακές μετρήσεις	48
4.2.2 Βιοχημικές μετρήσεις.....	49
5. Συζήτηση και συμπεράσματα.....	51

6. Βιβλιογραφία.....	57
-----------------------------	-----------

1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Γενικά

Το παγκόσμιο μέγεθος του ανθρώπινου πληθυσμού ανέρχεται σήμερα στα 7,6 δισεκατομμύρια και αναμένεται να φτάσει τα 9,8 το 2050 (United Nations, 2017). Με την άνοδο αυτή, η ανάγκη για καλλιεργήσιμη γη, ώστε να υπάρχει κάλυψη των ανθρώπινων διατροφικών αναγκών και καταπολέμηση της πείνας, είναι πιθανό να αυξηθεί (Tyson et al., 2011). Ωστόσο, τα παραδοσιακά συστήματα παραγωγής αμφισβητούνται λόγω της μείωσης των διαθέσιμων πόρων, γεγονός που οφείλεται τόσο στην κλιματική αλλαγή όσο και στην ανθρωπογενή δραστηριότητα. Λύση στο πρόβλημα αυτό, έρχονται να δώσουν οι εναλλακτικές γεωργικές πρακτικές όπως η ενυδρειοπονία, η οποία περιλαμβάνει την ταυτόχρονη καλλιέργεια φυτών και την εκτροφή υδρόβιων ειδών αλλά και η υδροπονία, οι οποίες φαίνεται να έχουν τη δυνατότητα να παρέχουν στους καταναλωτές υψηλής ποιότητας, θρεπτικά και ασφαλή προϊόντα χρησιμοποιώντας μικρότερες εκτάσεις γης και λιγότερους πόρους όπως το νερό (Rakocy et al., 2006; Love et al., 2015; Knaus and Palm, 2017; Wongkiew et al., 2017a).

Στα συστήματα ενυδρειοπονίας, τα φυτά αναπτύσσονται γρήγορα έχοντας ως κύρια πηγή θρέψης τα διαλυμένα θρεπτικά συστατικά που απεκκρίνονται από τα ψάρια αποφεύγοντας έτσι την εκτεταμένη χρήση λιπασμάτων όπως συνηθίζεται μέχρι στιγμής στις καλλιέργειες εδάφους (Rakocy et al., 2006; Love et al., 2014). Η σύνδεση υδατοκαλλιέργειών και υδροπονικών συστημάτων επιτρέπει την αντιμετώπιση ορισμένων αδυναμιών των παραδοσιακών συστημάτων και αυτό την καθιστά μια πολλά υποσχόμενη βιώσιμη μέθοδο παραγωγής τροφίμων.

Το ενυδρειοπονικό σύστημα καλλιέργειας μπορεί να θεωρηθεί ως βιώσιμο σύμφωνα με τον ορισμό των Lehman et al. (1993) οι οποίοι ορίζουν τη βιώσιμη γεωργία ως μια διαδικασία που δεν καταστρέφει τους μη ανανεώσιμους πόρους που είναι απαραίτητοι για αυτή. Επίσης, οι Francis et al. (2003) αναφέρουν ότι η αειφόρος γεωργική παραγωγή μπορεί να επιτευχθεί «*σχεδιάζοντας συστήματα που κλείνουν τους*

κύκλους των θρεπτικών ουσιών» όπως συμβαίνει και στα φυσικά οικοσυστήματα, γεγονός που αποτελεί ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά της ενυδρειοπονίας.

Επιπλέον, από οικονομικής πλευράς, ένα ενυδρειοπονικό σύστημα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη βελτίωση της διαβίωσης των κοινοτήτων διότι αυξάνει την οικονομική αποδοτικότητα, ενώ ταυτόχρονα μειώνει τις εισροές σε θρεπτικά συστατικά, εκτάσιμη γη αλλά και νερό (Konig et al., 2018). Αυτή η προσέγγιση στον τομέα της γεωργίας έχει θεωρηθεί ως μια πιθανή βιώσιμη λύση στις ανεπάρκειες της παραδοσιακής παραγωγής ιχθύων και φυτών, καθώς στη μείωση του ποσοστού ανεργίας σε πολλές υπανάπτυκτες και αναπτυσσόμενες χώρες (Bosma et al., 2017).

Συνεπώς, η χρήση βιώσιμων συστημάτων που μπορούν να καλύψουν τις διατροφικές ανάγκες των ανθρώπων αλλά ταυτόχρονα να εξασφαλίζουν τη βιώσιμη χρήση των φυσικών πόρων και τον περιορισμό της εκπομπής των αερίων θερμοκηπίου, ώστε να μετριαστεί το φαινόμενο της κλιματικής αλλαγής είναι πλέον μονόδρομος (FAO-ONU, 2017). Τον προβληματισμό αυτό, έρχεται να τον 'θεμελιώσει' η κυκλική οικονομία, μια έννοια που προωθείται τα τελευταία χρόνια τόσο από τον ευρωπαϊκό χώρο όσο και από πολλές επιχειρήσεις ανά τον κόσμο (Korhonen, Honkasalo, & Seppälä, 2018). Βασική αρχή της κυκλικής οικονομίας είναι η οικονομική ανάπτυξη η οποία θα συμβαδίζει με τη βιώσιμη περιβαλλοντική ισορροπία. Καθώς κύριος περιοριστικός παράγοντας της αειφορικής παραγωγής είναι τόσο η κατάχρηση και η εξάντληση των φυσικών πόρων όσο και της ενέργειας, η κυκλική οικονομία πρεσβεύει την κυκλική ροή των εισροών και όχι τη γραμμική που οδηγεί στην αναζήτηση εκ νέου εισροών.

1.2 Υδροπονία

Η καλλιέργεια των φυτών εκτός εδάφους δηλαδή είτε σε τεχνητό υπόστρωμα (π.χ. πετροβάμβακας, περλίτης κτλ) είτε σε καθαρό θρεπτικό διάλυμα, καλείται υδροπονία (Diver, 2006). Στα υδροπονικά συστήματα που χρησιμοποιούνται υποστρώματα παρέχεται ουσιαστικά μηχανική υποστήριξη στα φυτά, ενώ στην άλλη κατηγορία υδροπονικών συστημάτων οι ρίζες των φυτών αναπτύσσονται μέσα στο θρεπτικό διάλυμα χωρίς να υπάρχει κανένα άλλο μέσο στήριξης (SAT, NFT, AFT κ.α.). Επιπλέον, ανάλογα με τον τρόπο διαχείρισης του νερού και του θρεπτικού διαλύματος, τα υδροπονικά συστήματα χαρακτηρίζονται είτε ανοιχτά είτε κλειστά.

Στα κλειστά συστήματα το θρεπτικό διάλυμα οδηγείται με το σύστημα άρδευσης στα φυτά και αυτό που δεν απορροφήθηκε από το περιβάλλον της ρίζας τους (διάλυμα απορροής) οδηγείται πίσω στη δεξαμενή, 'διορθώνεται' και επαναχρησιμοποιείται. Αντίθετα, στα ανοικτά συστήματα το θρεπτικό διάλυμα που απορρέει μετά την τροφοδοσία των φυτών απορρίπτεται στο περιβάλλον (Benton, 2005).

Το κύριο πλεονέκτημα ενός υδροπονικού συστήματος είναι η δυνατότητα καλλιέργειας φυτών σε περιοχές με ακατάλληλα εδάφη είτε λόγω διάβρωσης και μειωμένης περιεκτικότητας σε οργανική ουσία είτε λόγω αυξημένης αλατότητας και ύπαρξης εδαφογενών παθογόνων που πλήττουν την περιοχή. Επιπλέον, η καλλιέργεια των φυτών πραγματοποιείται σε ένα καλύτερα ελεγχόμενο περιβάλλον (π.χ. ελέγχεται το περιβάλλον της ρίζας, χρόνος άρδευσης και λίπανσης κλπ.) και έτσι επιτυγχάνεται η εξοικονόμηση νερού και θρεπτικών στοιχείων. Η θρέψη των φυτών είναι ακριβής και τα θρεπτικά συστατικά βρίσκονται σε εύκολα προσλήψιμες για τα φυτά μορφές. Τέλος, αποφεύγεται η ρύπανση του υπόγειου υδροφόρου ορίζοντα από τα υπολείμματα λιπασμάτων, ιδιαίτερα στα κλειστά συστήματα (Keith, 2003; Μαυρογιαννόπουλος, 2006).

Ωστόσο, ιδιαίτερα στα ανοικτά συστήματα υδροπονίας το διάλυμα απορροής που απομακρύνεται από ένα τέτοιο σύστημα προς το περιβάλλον, με την περίσσεια θρεπτικών στοιχείων που διαθέτει, μπορεί να οδηγήσει στο φαινόμενο του ευτροφισμού, στη νιτροποίηση αλλά και στην επιβάρυνση των εδαφών. Επιπρόσθετα, η πλήρης εξάρτηση των φυτών από την προσθήκη λιπασμάτων στο σύστημα λόγω απουσίας εδάφους, οδηγεί στην επακόλουθη εξάντληση των φυσικών πόρων, ειδικά για την παραγωγή φωσφορικών και καλιούχων λιπασμάτων. Αυτή η απόρριψη θρεπτικών στο περιβάλλον και η υπερκατανάλωση χημικών ουσιών για λίπασμα, δυσχεραίνουν τη βιωσιμότητα του συστήματος δίνοντας χώρο στην κυκλική οικονομία να αναβαθμίσει την υπάρχουσα κατάσταση.

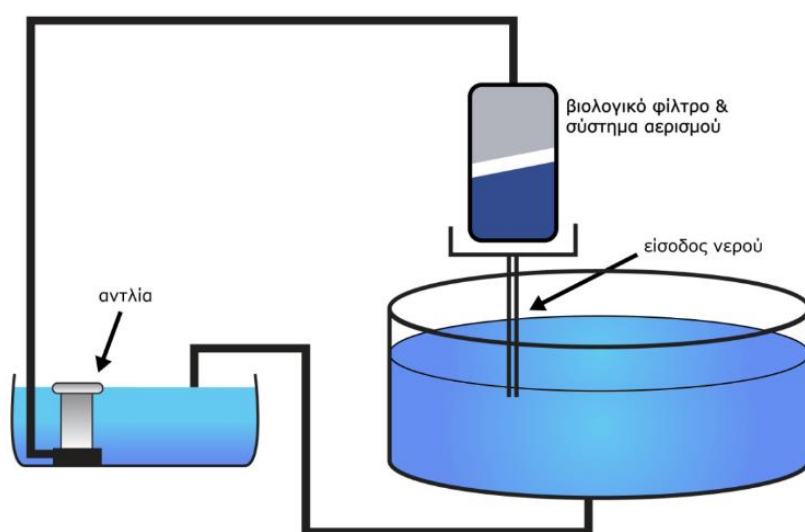
1.3 Υδατοκαλλιέργεια

Σύμφωνα με τον ορισμό του Παγκόσμιου Οργανισμού Τροφίμων και Γεωργίας (FAO), υδατοκαλλιέργεια είναι: *«η καλλιέργεια υδρόβιων οργανισμών σε ηπειρωτικές ή παράκτιες περιοχές η οποία περιλαμβάνει παρεμβάσεις στη διαδικασία της αύξησης και της εκκόλαψης προκειμένου να βελτιωθεί η παραγωγή και η ατομική ή συνεταιριστική ιδιοκτησία του καλλιεργούμενου αποθέματος»*. Η ανάπτυξη των υδρόβιων οργανισμών

μπορεί να γίνει σε αλμυρό, υφάλμυρο αλλά και γλυκό νερό και αποβλέπει στην εξασφάλιση αλιευτικών προϊόντων με υψηλή θρεπτική και υγειονομική αξία.

Τα διαφορετικά συστήματα υδατοκαλλιέργειας σχετίζονται άμεσα με τα επίπεδα της τεχνολογικής και οικονομικής ανάπτυξης αλλά και τις ιδιαίτερες περιβαλλοντικές συνθήκες της κάθε χώρας. Τα πιο διαδεδομένα είναι όμως είναι τα ανοιχτά συστήματα ύδατος, οι λιμνοδεξαμενές ή υδατοσυλλογές καλλιέργειας, τα συγκοινωνούνται συστήματα καλλιέργειας και τα συστήματα επανακυκλοφορίας νερού (*Recirculating Aquaculture Systems, RAS*).

Τα κλειστά συστήματα (Εικόνα 1) αντιπροσωπεύουν την εντατικοποιημένη ιχθυοκαλλιέργεια, καθώς σε μια έκταση παραγωγής εκτρέφονται τα περισσότερα ψάρια με τη μικρότερη κύρια εισροή του συστήματος που είναι το νερό. Στα συστήματα αυτά το νερό ανακυκλώνεται συνεχώς σε ένα σύστημα δεξαμενών για εξοικονόμηση νερού, γι' αυτό και ονομάζονται ανακυκλώμενα συστήματα ιχθυοκαλλιέργειας. Ένα από τα βασικότερα πλεονεκτήματα της επανακυκλοφορίας του νερού είναι ότι μειώνει την ποσότητα του φυσικού νερού που απαιτείται για την καλλιέργεια. Ως εκ τούτου, μονάδες με τέτοιου τύπου συστήματα μπορούν να δημιουργηθούν σε χώρους όπου ο όγκος του νερού αποτελεί περιοριστικό παράγοντα. Επίσης, ήδη υπάρχουσες μονάδες μπορούν να αυξήσουν την παραγωγή τους χωρίς να αυξηθεί το ποσό του απαιτούμενου νερού (Βουλτσιάδου κ.α., 2015).



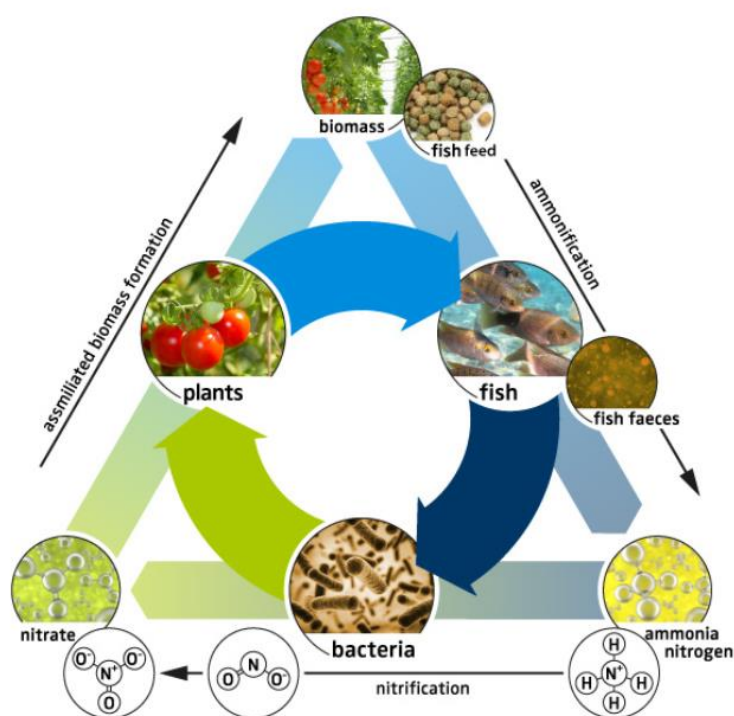
Εικόνα 1. Τυπικό σύστημα επανακυκλοφορίας νερού (*Recirculating Aquaculture Systems, RAS*) © Βουλτσιάδου κ.α., 2015

Είναι γεγονός ότι, στα κλειστά συστήματα επανακυκλοφορίας νερού, υπάρχει η δυνατότητα ελέγχου της παραγωγής τόσο ως προς την παραγωγή όσο και ως προς την περιβαλλοντική επιβάρυνση. Η ιχθυοκαλλιέργεια έχει δώσει ήδη λύση στην υπεραλίευση, επιπλέον όμως με την εντατικοποίησης των συστημάτων παραγωγής το πρόβλημα τείνει να εξαφανιστεί. Η ιχθυοκαλλιέργεια προκαλεί σοβαρό περιβαλλοντικό πρόβλημα με τον ευτροφισμό των νερών. Πιο συγκεκριμένα, η απόρριψη νερού και περιττωμάτων ψαριών που είναι πλούσια σε θρεπτικά (άζωτο και φώσφορος) οδηγεί στην ανεξέλεγκτη ανάπτυξη βακτηρίων προκαλώντας μείωση του διαθέσιμου οξυγόνου και παραγωγή τοξινών που θανατώνουν τα ψάρια ειδικά ενός κλειστού υδάτινου περιβάλλοντος (Piedrahita, 2003). Σε αυτό το πρόβλημα συμβάλλει κυρίως η εντατική ιχθυοκαλλιέργεια που δε διαχειρίζεται σωστά τις εκροές του συστήματος. Λύση στο πρόβλημα αυτό έρχεται να δώσει ξανά τόσο η κυκλική οικονομία όσο και η βιώσιμη ανάπτυξη συστημάτων παραγωγής τροφής ώστε να μειωθούν οι αρνητικές επιδράσεις στο περιβάλλον.

1.4 Ενυδρειοπονία

Η ενυδρειοπονία αναφέρεται σε συστήματα επανακυκλοφορίας νερού που εξασφαλίζουν την ταυτόχρονη καλλιέργεια φυτών και εκτροφή ιχθύων, τα οποία αναπτύσσονται συμβιωτικά (Rakocy, 1997). Ο πιο σύγχρονος ορισμός της ενυδρειοπονίας αναφέρθηκε από τον Lennard (2015) και εμπλουτίστηκε από τους Palm et al. (2018), σύμφωνα με τους οποίους *«ενυδρειοπονία είναι το σύστημα παραγωγής υδρόβιων οργανισμών και εδώδιμων φυτών, όπου η πλειοψηφία των θρεπτικών (>50%), που στηρίζουν την ανάπτυξη των φυτών προέρχεται από τα απόβλητα της τροφής των υδρόβιων οργανισμών»*. Ο όρος «aquaponics» προέρχεται ουσιαστικά από το συνδυασμό υδατοκαλλιέργειας και υδροπονίας. Αν και το κόστος της ενυδρειοπονίας είναι 11,6% υψηλότερο σε σχέση με την υδροπονία, υπόσχεται μειωμένο περιβαλλοντικό αποτύπωμα σε σύγκριση με τα συμβατικά συστήματα καλλιέργειας (Delaide et al., 2017).

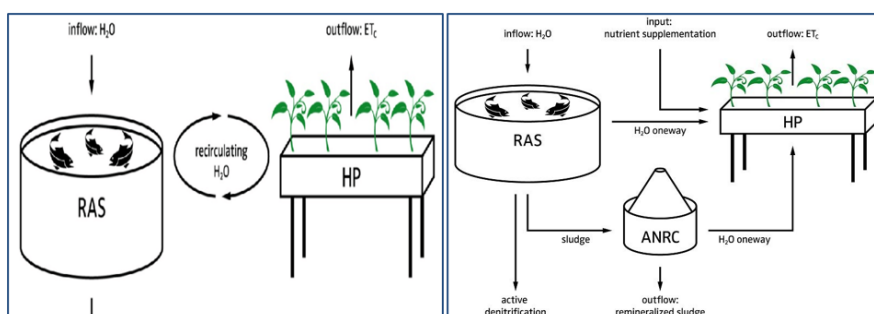
Η συμβατική υδροπονία απαιτεί συνθετικά λιπάσματα για να τροφοδοτήσει τα φυτά με τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά, ενώ τα ενυδρειοπονικά συστήματα χρησιμοποιούν το διαθέσιμο νερό των ιχθύων που είναι πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξη των φυτών. Ένα άλλο πλεονέκτημα αυτού του συνδυασμού έγκειται στο γεγονός ότι η περίσσεια θρεπτικών ουσιών δεν χρειάζεται να αφαιρεθεί μέσω περιοδικής ανταλλαγής εμπλουτισμένου νερού με φρέσκο νερό όπως εφαρμόζεται στα συστήματα υδατοκαλλιέργειας. Το σύστημα οδηγεί σε συμβίωση μεταξύ ψαριών, μικροοργανισμών και φυτών και ενθαρρύνει την αειφόρο χρήση νερού και θρεπτικών συστατικών, συμπεριλαμβανομένης της ανακύκλωσής τους (Εικόνα 2). Μέσα σε αυτήν τη συνεργιστική αλληλεπίδραση, οι αντίστοιχες οικολογικές αδυναμίες της υδατοκαλλιέργειας και της υδροπονίας μετατρέπονται σε δυνατά σημεία. Αυτός ο συνδυασμός ελαχιστοποιεί ουσιαστικά την ανάγκη εισαγωγής θρεπτικών συστατικών και παραγωγής απορριμμάτων, σε αντίθεση με τη λειτουργία τους ως ξεχωριστά συστήματα (Goddek et al., 2015).



Εικόνα 2. Συμβιωτικός κύκλος ενυδρειοπονικού συστήματος. © (Goddek et al., 2015)

Η αρχή της ενυδρειοπονίας βασίζεται ουσιαστικά στην αξιοποίηση των απορροών του κλειστού συστήματος ιχθυοκαλλιέργειας για την κάλυψη των θρεπτικών

αναγκών των φυτών σε ένα κλειστό υδροπονικό σύστημα. Ανάλογα με τη διαχείριση του νερού διακρίνεται σε δύο συστήματα: το συζευγμένο (one-loop aquaponics ή coupled system) και το μη συζευγμένο (multi-loop aquaponics ή decoupled system) (Εικόνα 3).



Εικόνα 3. Συζευγμένο ενυδρείοπονικό σύστημα (αριστερά), Μη συζευγμένο ενυδρείοπονικό σύστημα (δεξιά). © (Goddek, 2017).

Στο συζευγμένο σύστημα, το νερό ανακυκλώνεται πλήρως στα δύο συστήματα, δηλαδή από το σύστημα της ιχθυοκαλλιέργειας στην υδροπονία και από την υδροπονία στην ιχθυοκαλλιέργεια. Στο μη συζευγμένο, τα συστήματα είναι πιο αυτόνομα και το νερό μπορεί να κυκλοφορεί συνεχώς χωριστά στην ιχθυοκαλλιέργεια και χωριστά στην υδροπονία χωρίς να κάνει τον κύκλο και στα δύο. Δηλαδή ένα ποσό νερού από το σύστημα της ιχθυοκαλλιέργειας μπορεί να περάσει στο υδροπονικό σύστημα και από εκεί να ανακυκλωθεί μόνο στην υδροπονία χωρίς να επιστρέψει στα ψάρια.

Η ενυδρείοπονία λοιπόν δίνει τη λύση, μειώνοντας την επιβάρυνση του περιβάλλοντος, αξιοποιώντας τις εκροές των δύο συστημάτων, μειώνοντας τις εισροές και αυξάνοντας τελικά το κέρδος, ενώ συμβάλλει στη μείωση του φαινομένου του θερμοκηπίου και προσφέρει στην περιαστική γεωργία.

1.4.1 Λειτουργία ενυδρείοπονικού συστήματος

Ένα σύστημα ενυδρείοπονίας αποτελείται συνήθως από τη δεξαμενή των ψαριών, το υδροπονικό σύστημα, την αντλία, το μηχανικό και το βιολογικό φίλτρο (FAO, 2014). Ο βασικός σχεδιασμός του συστήματος στηρίζεται στην κυκλοφορία νερού από τη δεξαμενή των ψαριών διαμέσου ενός φίλτρου όπου είναι εγκατεστημένα τα βακτήρια προς το υδροπονικό σύστημα. Από τη δεξαμενή των ψαριών, το νερό με τα προϊόντα του μεταβολισμού τους ρέει προς το βιολογικό φίλτρο, όπου τα βακτήρια

μετατρέπουν την τοξική για τα ψάρια αμμωνία σε νιτρικά ιόντα, τα οποία προωθούνται στη συνέχεια στα φυτά τα οποία με τη σειρά τους καθαρίζουν το νερό που καταλήγει στο ενυδρείο με τα ψάρια με σκοπό να επαναχρησιμοποιηθεί.

Στην ενυδρειοπονία συνήθως δεν προστίθενται λιπάσματα ενώ κύρια πηγή θρεπτικών αποτελεί η τροφή σίτισης των ιχθύων. Σύμφωνα με τους Rakocy et al, (2006) τόσο η φυσιολογία των ψαριών όσο και η σύνθεση των ιχθυοτροφών ως προς την περιεκτικότητά τους σε πρωτεΐνες, φαίνεται να είναι οι κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών μέσα σε ένα ενυδρειοπονικό σύστημα. Οι ιχθυοτροφές του εμπορίου είναι πλούσιες σε πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, βιταμίνες και λιπίδια, γεγονός που καθιστά περιττή την προσθήκη θρεπτικών (Aquaponics NOMA, 2015). Ωστόσο παρατηρείται έλλειψη σε μικροστοιχεία όπως Ca και Fe (Rakocy et al., 1997), τα οποία αποτελούν απαραίτητα στοιχεία για την ανάπτυξη των φυτών. Επομένως, τα περισσότερα θρεπτικά συστατικά σε ένα ενυδρειοπονικό σύστημα προέρχονται κυρίως από τη διατροφή των ιχθύων διαμέσου της πέψης και απέκκρισης της (Tyson et al., 2011) ενώ τα στοιχεία που βρίσκονται σε έλλειψη συνήθως προστίθενται σε διαλυτή μορφή. Τα ψάρια εκκρίνουν οργανικά απόβλητα μέσω των κοπράνων με τη μορφή αμμωνίας την οποία αναλαμβάνουν κοινότητες βακτηρίων που βρίσκονται στο βιολογικό φίλτρο του ενυδρειοπονικού συστήματος και μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται νιτροποίηση, τη μετατρέπουν σε νιτρώδη και στη συνέχεια σε νιτρικά ιόντα ώστε να είναι σε προσλήψιμη μορφή για τα φυτά (Rakocy et al., 2006). Επιπλέον, ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο στη διαδικασία αυτή, παίζει και ο αερισμός προκειμένου να αποφευχθεί η δημιουργία αναερόβιων συνθηκών στο βιολογικό φίλτρο. Σημαντικό θα ήταν να αναφερθεί ότι η αποτελεσματικότητα της νιτροποίησης είναι υψηλότερη σε αλκαλικό διάλυμα (pH 7,5-8,0) ωστόσο το pH σε ένα ενυδρειοπονικό σύστημα παίρνει χαμηλότερες τιμές ώστε να είναι ιδανικό τόσο για τη λειτουργία των βακτηρίων όσο και των φυτών (Savidov et al., 2007).

1.4.2 Περιγραφή ενυδρειοπονικών συστημάτων

Με βάση τον τρόπο καλλιέργειας των φυτών τα διαφορετικά συστήματα ενυδρειοπονίας χωρίζονται σε τρεις βασικούς τύπους: το Media Filled Bed Systems (MFBS), το Raft System (RAFT) ή Deep Water Culture (DWC) και το Nutrient Film Technique (NFT).

Στον πρώτο τύπο γίνεται χρήση διάφορων αδρανών υποστρωμάτων όπως ο περλίτης, η διογκωμένη άργιλος κ.α. και αποτελεί ίσως το πιο κοινό υδροπονικό σύστημα που χρησιμοποιείται σε ερευνητικές δημοσιεύσεις, καθώς μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μια ποικιλία φυτικών ειδών και είναι μια εφικτή επιλογή για ερευνητικά συστήματα μικρής κλίμακας (Maucieri et al., 2018; Schmautz et al., 2016). Τα MFBS παρέχουν επίσης μεγαλύτερη σταθερότητα για την ανάπτυξη των ριζών, και ως αποτέλεσμα μεγαλύτερα σε μέγεθος φυτά μπορούν να προσαρμοστούν καλύτερα σε τέτοια συστήματα (Molovan and Bala, 2015). Ένα άλλο πλεονέκτημα αυτών είναι ότι τα υποστρώματα παρέχουν αρκετά μεγάλη επιφάνεια για την ανάπτυξη των νιτροποιητικών βακτηρίων αλλά και καλύτερη φυσική διήθηση, έτσι ώστε να μην απαιτείται βιολογικό φίλτρο (Maucieri et al., 2018). Αντίθετα, πολλές φορές τα υποστρώματα που βρίσκονται κοντά στα σημεία εισροής νερού φράσσονται με ιζήματα και δημιουργούν αερόβιες ζώνες (Mc murtry et al., 1997; Rakocy, 2003). Αυτό μπορεί να αντιμετωπιστεί ξεπλένοντας το σύστημα με φιλτραρισμένο νερό ή αφαιρώντας, καθαρίζοντας και αντικαθιστώντας με μη αυτόματο τρόπο το μέσο καλλιέργειας (Pattillo, 2017). Ωστόσο, αυτή είναι μια πρόσθετη λειτουργία συντήρησης που μπορεί να αυξήσει το κόστος παραγωγής. Για αυτούς τους λόγους, δεν επιλέγεται συχνά αυτός ο τύπος ενυδροπονικού συστήματος.

Η χρήση πλωτών σχεδίων είναι το πιο κοινό εμπορικό ενυδρειοπονικό σύστημα σύμφωνα με μια διεθνή μελέτη των Love et al. (2015α). Το DWC είναι δημοφιλές σε εμπορικής κλίμακας συστήματα λόγω του χαμηλού κόστους συντήρησής του, της μέγιστης επαφής ρίζας με το νερό και της ικανότητάς του να υποστηρίζει μεγάλο αριθμό φυτών με ελάχιστα υλικά (Molovan and Bala, 2015; Pattillo, 2017). Οι Lennard και Leonard (2006) διαπίστωσαν ότι η DWC απομάκρυνε το περισσότερο νιτρικό άλας από ένα ενυδρειοπονικό σύστημα τέτοιου τύπου σε σύγκριση με το NFT και το MFBS. Επιπλέον, σε μια μελέτη των Forchino et al. (2017), υπολογίστηκε ότι το DWC είχε μικρότερο περιβαλλοντικό αντίκτυπο από ένα MFBS σύστημα, με την κύρια διαφορά να αποδίδεται στο αδρανές υλικό που απαιτείται για την καλλιέργεια των φυτών. Αν

και αυτό το σύστημα απαιτεί περισσότερο νερό από το σύστημα με τη χρήση μέσων ή το NFT, πολλές δημοσιεύσεις έχουν καταγράψει πως διαθέτει καλύτερη απόδοση χρήσης νερού. Οι Love et al. (2015b) διαπίστωσαν ότι ένα σύστημα DWC χρησιμοποίησε το 1% του συνολικού νερού του συστήματος ανά ημέρα ενώ δεν έχει αναφερθεί για κάποιον άλλο τύπο τόσο υψηλή αποδοτικότητα χρήσης νερού. Η μεγαλύτερη πρόκληση κατά τη χρήση του DWC είναι η ανάγκη για αερισμό (ενσωμάτωση οξυγόνου) στο διάλυμα των φυτοδοχείων. Δεδομένου ότι τα ενυδρειοπονικά συστήματα εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από τη δραστηριότητα των αερόβιων μικροοργανισμών για την πρόσληψη θρεπτικών ουσιών αλλά και των απαιτήσεων των ριζών σε οξυγόνο, υπάρχουν αυξημένες ανάγκες για προσθήκη οξυγόνου στα φυτοδοχεία (Pattillo, 2017).

Τέλος, στη μέθοδο του λεπτού στρώματος θρεπτικού διαλύματος (NFT) χρησιμοποιούνται οριζόντιοι πλαστικοί σωλήνες όπου μέσα σε κάθε έναν ρέει το θρεπτικό διάλυμα σε λεπτό στρώμα. Τα φυτά τοποθετούνται μέσα σε τρύπες στην κορυφή των σωλήνων, με τις ρίζες τους τοποθετημένες εσωτερικά και το υπέργειο μέρος εξωτερικά αυτών. Έτσι, είναι σε θέση να χρησιμοποιούν αυτή την λεπτή μεμβράνη νερού πλούσια σε θρεπτικά συστατικά (Lennard & Leonard, 2006).



Εικόνα 4. Συστήματα καλλιέργειας φυτών σε ενυδρειοπονικό σύστημα: Καλλιέργεια σε υπόστρωμα (επάνω αριστερά), Καλλιέργεια σε συστήματα επίπλευσης (επάνω δεξιά)
Καλλιέργεια NFT (κάτω κέντρο)

1.5 Ενυδρειοπονία και κατάπνηση

Η καταπνήση στα φυτά ορίζεται ως ένας οποιοσδήποτε εξωτερικός παράγοντας που έχει την ικανότητα να επηρεάζει αρνητικά την ανάπτυξη, την παραγωγικότητα, την αναπαραγωγική ικανότητα και την επιβίωση του φυτού. Οι καταπνήσεις που δέχονται τα φυτά από το περιβάλλον διακρίνονται σε βιοτικές και αβιοτικές. Οι βιοτικές αναφέρονται σε καταπνήσεις από βιοτικούς οργανισμούς όπως για παράδειγμα οι διάφοροι εχθροί (έντομα, ζώα, κ.α.) και ασθένειες (μύκητες, βακτήρια, ιοί κ.α.), ο ανταγωνισμός από παράσιτα και ζιζάνια. Οι αβιοτικές καταπνήσεις προκύπτουν από την αλληλεπίδραση του φυτού με το φυσικό ή χημικό περιβάλλον στο οποίο αναπτύσσεται, με βασικότερες τις ακραίες θερμοκρασίες, την υπερβολική ή ανεπαρκή ακτινοβολία, την ξηρασία, την αλατότητα αλλά και από μηχανικούς παράγοντες όπως είναι οι άνεμοι, το χαλάζι κ.α.

Στον τομέα της ενυδρειοπονίας, έχουν δημοσιευθεί έως τώρα ελάχιστες έρευνες σχετικά με την επίδραση κάποιου είδους καταπνήσης στην φυσιολογία των φυτών. Οι Mangmang et al. (2015) μελέτησαν την επίδραση του *Azospirillum brasilense* σε βασιλικό, οι Geisenhoff et al. (2016) αξιολόγησαν την επίδραση δύο διαφορετικών υποστρωμάτων στο μαρούλι και οι Beauchamp et al. (2018) προσδιόρισαν την ανεκτικότητα του μαρουλιού σε διάφορα επίπεδα αλατότητας. Ωστόσο, δεν εντοπίστηκε άλλη έρευνα σχετικά με την επίδραση κάποιου παράγοντα καταπνήσης στη φυσιολογία φυτών βασιλικού. Παρ'όλα αυτά, διεξήχθη ένα πείραμα με κύριο σκοπό την αξιολόγηση της παραγωγής βασιλικού ανεπτυγμένο σε ενυδρειοπονικό σύστημα όπου πραγματοποιούνταν άρδευση με διαφορετικές αναλογίες ενυδρειοπονικών και υδροπονικών διαλυμάτων (Roosta, 2014). Τα φυτά βασιλικού αρδεύονταν τρεις φορές την ημέρα με 200 mL: α) μόνο ενυδρειοπονικό διάλυμα (AAA), β) ενυδρειοπονικό-υδροπονικό-ενυδρειοπονικό διάλυμα κατ'εναλλαγή (ΑΗΑ), γ) υδροπονικό-ενυδρειοπονικό-υδροπονικό διάλυμα (ΗΑΗ), και τέλος, υδροπονικό-ενυδρειοπονικό-υδροπονικό (ΗΗΗ) διάλυμα, αντίστοιχα. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, το νωπό και ξηρό βάρος των βλαστών αλλά και των ριζών του βασιλικού παρουσίασε μικρότερες τιμές στη μεταχείριση AAA. Επίσης, τα φυτά στη μεταχείριση ΑΗΑ ήταν λιγότερο πράσινα, ενώ τα φύλλα των φυτών στη μεταχείριση AAA εμφάνισαν χλώρωση. Αυτή η χλώρωση, είχε ως αποτέλεσμα χαμηλότερο καθαρό ρυθμό αφομοίωσης διοξειδίου του άνθρακα (CO_2), μειωμένη φωτοσυνθετική απόδοση,

ρυθμό διαπνοής και μειωμένη στοματική. Ο δείκτης F_v / F_m επηρεάστηκε αρνητικά από την εφαρμογή ενυδρειοπονικού διαλύματος (AAA) ενώ η αντικατάσταση η αντικατάσταση μιας ημερήσιας δόσης με υδροπονικό διάλυμα (AHA) αύξησε σημαντικά τον δείκτη. Ωστόσο, στις μεταχειρίσεις HAH και HHH δεν παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση στην παράμετρο αυτή. Επιπλέον, οι συγκεντρώσεις σιδήρου (Fe), μαγγανίου (Mn) και καλίου (K) στα φύλλα ήταν χαμηλές σε αντίθεση με τη συγκέντρωση ψευδαργύρου (Zn) που αυξήθηκε, σε υψηλότερες αναλογίες ενυδρειοπονικού:υδροπονικού διαλύματος. Οι χαμηλές συγκεντρώσεις Fe, Mn και K στο υδατικό διάλυμα μπορεί να είναι ο κύριος παράγοντας που οδήγησε στην περιορισμένη ανάπτυξη. Η εκτεταμένη χλώρωση που προκλήθηκε στη μεταχείριση AAA κατέστησε τα φυτά ακατάλληλα για αγορά. Συνεπώς, απαιτείται περισσότερη έρευνα για τη βελτιστοποίηση της αναλογίας ψαριών: φυτών ώστε να επιτευχθεί υψηλότερη παραγωγή ιχθύων και φυτών υψηλότερης ποιότητας. Από την άλλη πλευρά, η μεταχείριση HAH, η άρδευση φυτών βασιλικού με ενυδρειοπονικό και υδροπονικό διάλυμα μπορεί να είναι μια εναλλακτική λύση για την παραγωγή καλής ποιότητας φυτών βασιλικού.

2.Σκοπός

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση και η αξιολόγηση της επίδρασης διαφορετικών ιχθυοτροφών στην ανάπτυξη, φυσιολογία και καταπόνηση του πλατύφυλλου βασιλικού (*Ocimum basilicum*) σε ενυδρειοπονική καλλιέργεια εργαστηριακής κλίμακας. Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, ο σίδηρος είναι ένα από τα βασικά μικροθρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξη τόσο των φυτών όσο και των ψαριών σε ενυδρειοπονικά συστήματα, δεδομένου ότι εμπλέκεται στη φωτοσύνθεση, στη σύνθεση DNA και σε πολλές άλλες κυτταρικές λειτουργίες των φυτών ενώ αποτελεί αναπόσπαστο συστατικό των πρωτεϊνών που εμπλέκονται στην κυτταρική αναπνοή και τη μεταφορά οξυγόνου των ψαριών (Rakocy *et al.*, 2004). Ωστόσο, στα ενυδρειοπονικά συστήματα συχνά παρατηρείται έλλειψη σιδήρου λόγω χαμηλών συγκεντρώσεων του μικροστοιχείου αυτού στις εμπορικές ζωοτροφές. Επομένως, προκειμένου να εξασφαλιστεί η βέλτιστη απόδοση του φυτού, διερευνήθηκε η χορήγηση ιχθυοτροφής με 30% προσθήκης αεροξηραμένου υπέργειου μέρους τσουκνίδας, όπου σύμφωνα με έρευνες (Dhouibi *et al.*, 2020) τα φύλλα της τσουκνίδας είναι πλούσια σε θρεπτικά όπως, σίδηρος, ασβέστιο και κάλιο και φαίνεται να έχει ευεργετικές ιδιότητες τόσο στο αναπνευστικό όσο και στο ανοσοποιητικό σύστημα των ψαριών (Awad & Austin, 2010; Ngugi *et al.*, 2015; Bilen *et al.*, 2014).

3. Υλικά και Μέθοδοι

3.1 Περιγραφή πειράματος

Το πείραμα διεξήχθη στους εργαστηριακούς χώρους ενυδρειοπονίας της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας το οποίο έχει λάβει πιστοποίηση από την Περιφέρεια Θεσσαλίας, Διεύθυνση Κτηνιατρικής, Τμήμα Κ.Α.Φ.Ε, και διήρκεσε 60 ημέρες, από τις 24 Ιουλίου μέχρι τις 23 Σεπτεμβρίου 2020.

Η παρούσα έρευνα πραγματοποιήθηκε σε ενυδρειοπονικά συστήματα εργαστηριακής κλίμακας συνολικού ωφέλιμου όγκου 100L και περιλάμβανε την ‘ταυτόχρονη’ καλλιέργεια πλατύφυλλου βασιλικού (*Ocimum basilicum*) με μέσο όρο ύψους 7,73 cm και κόκκινης τιλάπιας (*Oreochromis sp.*) με μέσο όρο σωματικού βάρους 12g. Σημαντικό θα ήταν να αναφερθεί ότι, τα φυτά καλλιεργήθηκαν σε σύστημα επίπλευσης ενώ το υπόστρωμα που χρησιμοποιήθηκε στα φυτοδοχεία ήταν η υφαιστειακή λάβα.

Κατά τη διάρκεια του πειράματος διερευνήθηκε και αξιολογήθηκε η επίδραση δύο διαφορετικών ισοπρωτεϊνικών και ισοενεργειακών τροφών σίτισης των ιχθύων στην ανάπτυξη, φυσιολογία και καταπόνηση του πλατύφυλλου βασιλικού. Κάθε μεταχείριση είχε τέσσερις επαναλήψεις, όπου τα τέσσερα συστήματα (ST1, ST3, ST5, ST7) σιτίζονταν με την τροφή control και τα άλλα τέσσερα (ST2, ST4, ST6, ST8) με τροφή που ήταν εμπλουτισμένη κατά 30% με τσουκνίδα (Πίνακας 1). Πιο συγκεκριμένα, η κάθε επανάληψη περιλάμβανε 10 ψάρια και 5 φυτά ανά σύστημα έχοντας τελικό δείγμα 80 ψάρια (40 ανά μεταχείριση) και 40 φυτά (20 ανά μεταχείριση). Η κατανομή των διαφορετικών μεταχειρίσεων έγινε κατ’εναλλαγή ώστε να γίνει καλύτερη τυχαιοποίηση και να ελαχιστοποιηθούν τυχόν σφάλματα που μπορεί να προέρχονται από την επίδραση εξωγενών παραγόντων του χώρου διεξαγωγής του πειράματος. Όσον αφορά τη συχνότητα σίτισης, ψάρια ταΐζονταν δύο φορές την ημέρα, μέχρι κορεσμού. Η διαδικασία του ταΐσματος κρατούσε μισή ώρα, μιας και η τροφή δινόταν σε μικρές ποσότητες και πολλές φορές ενώ τις Κυριακές πραγματοποιούνταν ασιτία.

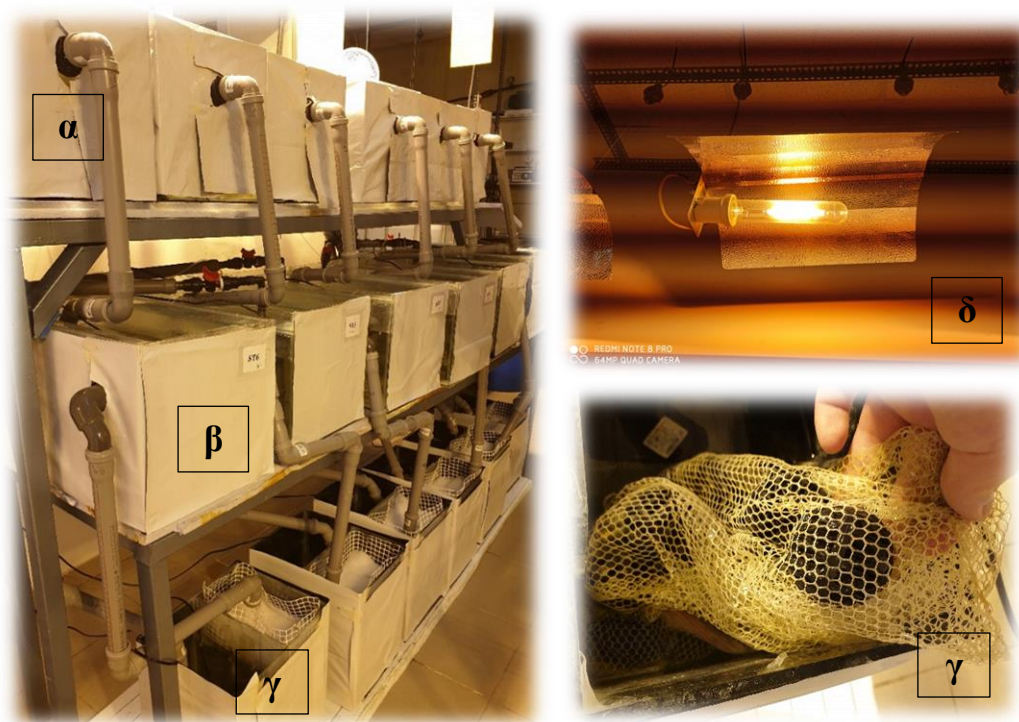
Τέλος, θα πρέπει να επισημανθεί ότι κατά την μέση του πειράματος (day 30) πραγματοποιήθηκε κοπή του υπέργειου τμήματος του βασιλικού πάνω από το τρίτο ζεύγος των πλάγιων κλάδων ώστε να εκτιμηθεί η αναβλάστηση του φυτού.

Πίνακας 1. Σύσταση ιχθυοτροφών που χρησιμοποιήθηκαν.

(%)	Τροφή - Control	Τροφή -Τσουκνίδα 30%
Fishmeal	27,5	27,5
Wheat meal	11,3	3,8
Corn gluten	18	23,3
Soybean meal	30	
Fish oil	7,2	7,2
Soybean oil	3	4,6
Τσουκνίδα		30
Vit & Min Premix	2	2
MCP	1	1
Lys		0,5
Met		0,1

3.2 Περιγραφή και λειτουργία των συστημάτων ενυδρείοπονίας

Για την πραγματοποίηση του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν 8 συστήματα ενυδρείοπονίας. Το κάθε σύστημα αποτελούνταν από μια δεξαμενή ψαριών χωρητικότητας 54 L, μια δεξαμενή ή κλίνη φυτών 54 L και επιφάνειας 1800 cm² που βρισκόταν πάνω από τη δεξαμενή των ψαριών και μια δεξαμενή χωρητικότητας 31 L κάτω από τη δεξαμενή των ψαριών, όπου τοποθετούνταν το μηχανικό και βιολογικό φίλτρο αλλά και η αντλία νερού. (Εικόνα 4).



Εικόνα 4 . α) Δεξαμενή φυτών β) Δεξαμενή ψαριών
 γ) Μηχανικό φίλτρο - Βιολογικό φίλτρο - Αντλία νερού
 δ) λαμπτήρας υψηλής πίεσης νατρίου

Η κυκλοφορία του νερού ήταν 100% συνεχής, αφού το συγκεκριμένο σύστημα συγκαταλέγεται στα "one loop" ενυδρείοπονικά συστήματα και το νερό μεταφέρεται από τη δεξαμενή των ψαριών στα φυτά και από τα φυτά στα ψάρια.

Η πρώτη στάση του νερού που απορρέει από τη δεξαμενή των ψαριών στο παρόν πείραμα ήταν το μηχανικό φίλτρο. Όπως αναφέρεται και στη βιβλιογραφία, κύριος ρόλος του μηχανικού φίλτρου ή φίλτρου καθίζησης είναι η αφαίρεση των στερεών αποβλήτων (Goddek *et al.*, 2015). Είναι γεγονός ότι, όσο πιο γρήγορα απομακρύνονται τα στερεά σώματα από το κύριο σύστημα, τόσο λιγότερες οι πιθανότητες να διασπώνται σε μικρότερα σωματίδια, που είναι πιο δύσκολα διαχειρίσιμα. Για το λόγο αυτό, τα μηχανικά φίλτρα τοποθετούνται μετά τις δεξαμενές ψαριών και πριν από το βιολογικό φίλτρο, ώστε να απομακρύνουν άμεσα τα στερεά σώματα που προέρχονται από περιττώματα ψαριών ή ιχθυοτροφή που δεν καταναλώθηκαν από τα ψάρια (FAO, 2014).

Στο παρόν πείραμα, το μηχανικό φίλτρο αποτελούνταν από ένα διάτρητο καλάθι με οπές 1 cm, ενώ κάλυπτε συνολικά μια επιφάνεια 455 cm². Επίσης, έγινε προσθήκη σφουγγαριού (υαλοβάμβακα) που διακρίνονταν από παχύ στρώμα ώστε να είναι

επιτυχής η συγκράτηση των στερεών υπολειμμάτων από τη δεξαμενή ψαριών (κόπρανα και τροφή που δεν έχει καταναλωθεί).

Αμέσως μετά την απομάκρυνση των περιττωμάτων και των υπολειμμάτων, το νερό καταλήγει στο βιολογικό φίλτρο. Υπάρχουν πολλά διαφορετικά βιολογικά φίλτρα αλλά αυτά που χρησιμοποιούνται πιο συχνά είναι τα: τα φίλτρα σφαιριδίων, άμμου, αναρρόφησης (trickling filters) αλλά και οι βιοαντιδραστήρες με κινούμενες κλίνες (moving bed bioreactor, MBBR). Τα δύο τελευταία είναι τα πιο διαδεδομένα σε εφαρμογή (Rahman, 2010). Το βιολογικό φίλτρο παίζει ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο διότι σε αυτό τοποθετούνται τα βακτήρια, τα οποία μέσω της βιολογικής επεξεργασίας του νερού φιλτράρουν την αμμωνία. Πιο συγκεκριμένα, η παραγόμενη από τα ψάρια αμμωνία, οξειδώνεται από τα νιτροποιητικά βακτήρια σε νιτρικά ιόντα, με μια αντίδραση οξείδωσης που ονομάζεται νιτροποίηση. Αρχικά, τα βακτήρια του γένους *Nitrosomonas* οξειδώνουν την αμμωνία σε νιτρώδη και έπειτα τα βακτήρια του γένους *Nitrobacter* οξειδώνουν τα νιτρώδη σε νιτρικά. Στο παρόν πείραμα, τα βακτήρια ήταν εγκατεστημένα σε κυλινδρικό υπόστρωμα K1 (Ceramic Rings, διαμέτρου 10mm) και βιόσφαιρες (διαμέτρου 25mm), αλλά και λάβα. Για τη πραγματοποίηση του κύκλου του αζώτου, τα βιολογικά φίλτρα απαιτούν άριστη ποιότητα νερού συνεπώς, εξασφάλιση υψηλών επιπέδων οξυγόνου είναι ζωτικής σημασίας.

Από το βιολογικό φίλτρο το νερό περνούσε στο φίλτρο αντλίας μέσω του οποίου διοχετεύεται στο φυτοδοχείο. Η αντλία νερού από το φίλτρο, διοχέτευε το 90% του νερού στη καλλιεργητική περιοχή των φυτών και το υπόλοιπο 10% διαμοιράζονταν στα ενυδρεία εκτροφής των ψαριών.

Τα φυτά καλλιεργήθηκαν σε υδροπονικά σε σύστημα επίπλευσης - DWC (Deep Water Culture) τοποθετημένα σε βάσεις από φελιζόλ, με τις ρίζες μόνιμα βυθισμένες στο νερό. Για την καλύτερη ανάπτυξη των φυτών, αποφυγή προσβολής ασθενειών και σάπισμα των ριζών, κρίθηκε απαραίτητη η τοποθέτηση πετρών αερισμού σε κάθε δεξαμενή. Πάνω από την κλίνη των φυτών ήταν κρεμασμένη μια λάμπα HPS (High Pressure Sodium) των 400W, μαζί με έναν ανακλαστήρα σε ύψος 65 cm (Εικόνα). Η φωτοπερίοδος ορίστηκε σύμφωνα με τις απαιτήσεις του φυτού και της εποχής, δηλαδή 14 ώρες πλήρους φωτισμού και 10 ώρες σκοτάδι. Επιπλέον, οι θέσεις των φυτών καθορίστηκαν από την μέτρηση της φωτοσυνθετικά ενεργής ακτινοβολίας PAR (Photosynthetically Active Radiation), η οποία είχε εύρος 400-500 nm ώστε να εξασφαλίζει τις βέλτιστες συνθήκες φωτός για τη φωτοσύνθεση των φυτών.

3.3 Προετοιμασία ενυδρειοπονικού συστήματος

Ιδιαίτερα σημαντική κρίνεται η διαδικασία τοποθέτησης των οργανισμών σ' ένα ενυδρειοπονικό σύστημα. Αρχικά, τοποθετήθηκαν τα βακτήρια στο βιολογικό φίλτρο κάνοντας χρήση του σκεύασματος Biodigest της εταιρείας Prodibio. Η οξειδωτική ικανότητα των βακτηρίων παίζει τον καθοριστικό στην αποφυγή συσσώρευσης αμμωνίας σ' ένα ενυδρειοπονικό σύστημα, η οποία πάνω πάνω από τα επιτρεπτά όρια θεωρείται θανατηφόρα ακόμα και για τα ίδια τα ψάρια που τη μεταβολίζουν.

Η αποικία των βακτηρίων κατά τις πρώτες μέρες εγκατάστασής τους παρουσιάζει φωτοευαισθησία για τον λόγο αυτό αποφεύγεται η εκτεταμένη έκθεση αυτών στο φως. Η διαδικασία προσαρμογής των βακτηρίων στο σύστημα διήρκησε περίπου 3 εβδομάδες και περιλάμβανε τη συνεχή εισαγωγή αμμωνίας μέσω των ψαριών. Μέσα σε 5-7 ημέρες μετά την πρώτη προσθήκη αμμωνίας, φαίνεται να ξεκίνησε ο σχηματισμός της πρώτης αποικίας αλλά και η οξείδωση της αμμωνίας σε νιτρώδη άλατα. Είναι γνωστό ότι, η αμμωνία πρέπει να προστίθεται συνεχώς, αλλά προσεκτικά, ώστε να εξασφαλίζεται επαρκής τροφή για την αναπτυσσόμενη αποικία αποφεύγοντας την τοξικότητα. Έπειτα από τις επόμενες 5-7 ημέρες, τα επίπεδα νιτρωδών στο νερό εμφάνισαν αύξηση, γεγονός που με τη σειρά του 'ενεργοποίησε' τη δράση των βακτηρίων του γένους *Nitrobacter*. Καθώς οι πληθυσμοί των βακτηρίων αυξάνονταν, τα επίπεδα νιτρωδών στο νερό εμφάνισαν μείωση, καθώς οι νιτρώδες ενώσεις οξειδώνονταν σε νιτρικά. Η διαδικασία ολοκληρώθηκε όταν η συγκέντρωση των νιτρικών αυξάνονταν σταθερά (0 mg L^{-1}) και η συγκέντρωση της αμμωνίας ήταν μικρότερη από 1 mg L^{-1} . Σε ιδανικές συνθήκες, η διαδικασία αυτή ολοκληρώνεται περίπου 25-40 ημέρες εξαιτίας της αργής δράσης των νιτρικών βακτηρίων. Αν οι συγκεντρώσεις αμμωνίας και νιτρωδών είναι μικρότερες από 1 mg L^{-1} , τότε το λειτουργία του βιολογικού φίλτρου είναι καλή και αποφεύγεται ο κίνδυνος τοξικότητας στα ψάρια.

Αμέσως μετά, τοποθετήθηκαν τα ψάρια στο σύστημα. Καλό είναι τα ψάρια να μπαίνουν αργά στο σύστημα. Δεν είναι ασυνήθιστο να βλέπουμε μετά την εισαγωγή των ψαριών αύξηση στη συγκέντρωση της αμμωνίας στο σύστημα.

Τέλος, τοποθετήθηκαν τα φυτά καθώς τόσο η έκταση της καλλιεργητικής περιοχής όσο και ο ρυθμός ανάπτυξης των φυτών, εξαρτάται άμεσα από την ποσότητα των παραγόμενων από τα ψάρια νιτρικών ιόντων (Buzby & Lin, 2014). Αντίθετα με τη

σειρά εισαγωγής των οργανισμών στο σύστημα, τα φυτά απομακρύνθηκαν πρώτα από το σύστημα (συγκομιδή) και έπειτα ακολούθησαν κατά σειρά τα ψάρια και τα βακτήρια.

Σημαντικό θα ήταν να αναφερθεί ότι, τα φυτά τοποθετήθηκαν στο σύστημα αφού το pH έφτασε την τιμή 7, ώστε να υπάρχουν ιδανικές συνθήκες για την πρόσληψη των θρεπτικών συστατικών. Για τον λόγο αυτό, στο διάστημα που μεσολάβησε μεταξύ της τοποθέτησης των ψαριών στο σύστημα και της εισαγωγής των φυτών εφαρμόστηκε $0,09\text{mL}^{-1} \text{H}_3\text{PO}_4$ 85% ανά σύστημα ώστε να φτάσει το pH στην επιθυμητή τιμή.

Επίσης, ρυθμίστηκε το ύψος τοποθέτησης των λαμπτήρων υψηλής πίεσης νατρίου και τέθηκε σε εφαρμογή η απαιτούμενη φωτοπερίοδος για τα φυτά βασιλικού αφού ελέγχθηκε η φωτοσυνθετικά ενεργή ακτινοβολία PAR (Photosynthetically Active Radiation) με το ψηφιακό όργανο Skye, ώστε να παίρνει σχεδόν σε όλες τις θέσεις όπου θα τοποθετούνταν τα φυτά παρόμοιες τιμές εύρους 400-500 nm και να εξασφαλίζει τις βέλτιστες συνθήκες για φωτοσύνθεση (Πίνακας).

Τέλος, όσον αφορά τη θερμοκρασία, δύο ημέρες πριν την εγκατάσταση των φυτών με τη χρήση ενός ψηφιακού οργάνου CONSORT T651, καταγράφηκαν οι τιμές πάνω από τις θέσεις των φυτών (Πίνακας 2). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, ο ρόλος της θερμοκρασίας είναι καθοριστικός για την αύξηση και ανάπτυξη των φυτών καθώς επηρεάζει διάφορες βιοχημικές αντιδράσεις που σχετίζονται άμεσα με τον μεταβολισμό, τη διαλυτότητα των αερίων, την πρόσληψη ανόργανων ιόντων αλλά και την απώλεια νερού μέσω της διαπνοής (Βογιατζής, 2009).

Πίνακας 2. Τιμές ενεργούς ακτινοβολίας PAR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) πάνω από τις θέσεις τοποθέτησης των φυτών στη υδροπονική κλίνη σε κάθε ενυδρειοπονικό σύστημα.

Θέση	ST1	ST2	ST3	ST4	ST5	ST6	ST7	ST8
1	430	465	442	445	478	342	473	491
2	435	430	409	449	440	347	405	442
3	410	401	425	418	390	437	417	440
4	441	432	398	403	428	428	385	430
5	398	434	468	456	509	408	441	518
AVG	422,80	432,40	428,40	434,20	449,00	392,40	424,20	464,20
SD	18,10	22,68	27,68	22,62	45,95	45,00	33,99	38,28
SEM	8,10	10,14	12,38	10,12	20,55	20,13	15,20	17,12

Πίνακας 3. Τιμές Θερμοκρασίας (° C) πάνω από τις θέσεις τοποθέτησης των φυτών στη υδροπονική κλίνη σε κάθε ενυδρειοπονικό σύστημα.

Θέση	ST1	ST2	ST3	ST4	ST5	ST6	ST7	ST8
1	23,8	23,7	23,6	23,6	23,7	23,7	23,8	24,3
2	23,7	23,6	23,7	23,6	23,7	23,7	23,9	24,5
3	23,4	23,6	23,7	23,6	23,7	23,7	24,1	24,6
4	23,5	23,5	23,8	23,5	23,7	23,7	24,2	24,4
5	23,6	23,5	23,7	23,5	23,7	23,7	24,3	24,5
AVG	23,60	23,58	23,70	23,56	23,70	23,70	24,06	24,46
SD	0,16	0,08	0,07	0,05	0,00	0,00	0,21	0,11
SEM	0,07	0,04	0,03	0,02	0,00	0,00	0,09	0,05

3.4 Κάλυψη θρεπτικών αναγκών των φυτών στο ενυδρειοπονικό σύστημα

Η χρήση των ιχθυοτροφών στην ενυδρειοπονία είναι η κύρια είσοδος θρεπτικών για τα φυτά. Όπως αναλύθηκε εκτενώς και στην παραπάνω ενότητα, τόσο τα απεκκρίματα των ψαριών όσο και η διαλυτοποίηση των υπολειμμάτων τροφής αποτελούν την κύρια παροχή θρεπτικών στα φυτά που καλλιεργούνται στην ενυδρειοπονία (Robaina *et al.*, 2019). Σύμφωνα με τους Khakyzadeh *et al.* (2015), έχει υπολογιστεί ότι περίπου το 5% της ιχθυοτροφής δεν καταναλώνεται από τα ψάρια ενώ το υπόλοιπο 95% καταναλώνεται και πέπτει. Από αυτό το ποσοστό το 30-40% μετατρέπεται σε βιομάζα των ιχθύων ενώ το 60-70% απελευθερώνεται από τα ψάρια σε μορφή κοπράνων, ουρίας και αμμωνίας (FAO, 2014).

Ωστόσο, σύμφωνα με αρκετές έρευνες (Bittsanszky *et al.*, 2016; Blindariou *et al.*, 2013) σε ενυδρειοπονικά συστήματα παρατηρείται έλλειψη σε ιχνοστοιχεία όπως ο σίδηρος (Fe), το μαγγάνιο (Mn) κ.α. Επιπλέον, οι Diver (2006), Rakocy *et al.* (2006) και Seawright *et al.* 1998) συμφωνούν στο γεγονός ότι με τη σωστή ιχθυοπυκνότητα τα επίπεδα νιτρικών (NO₃), φωσφορικών (PO₄⁻), βορίου (B), και χαλκού (Cu) επαρκούν για την ανάπτυξη των φυτών, ενώ στοιχεία όπως το κάλιο (K), το ασβέστιο (Ca) και ο σίδηρος (Fe) είναι ελλιπή για μέγιστη παραγωγή.

Κατά συνέπεια, οι ιχθύες φαίνεται πως έχουν τη δυνατότητα να προμηθεύσουν σε σημαντικές συγκεντρώσεις τα περισσότερα από τα θρεπτικά που χρειάζονται τα φυτά εκτός από τον σίδηρο και το κάλιο, γεγονός που παρατηρήθηκε και στο παρόν

πείραμα, καθώς την όγδοη ημέρα εμφανίστηκαν συμπτώματα τροφοπενίας κυρίως στα νεαρά φύλλα των φυτών. Αυτό μας οδήγησε στη σκέψη συμπλήρωσης αυτών των στοιχείων στο σύστημα ώστε να αποφευχθεί ο θάνατος των φυτών. Έπειτα από τακτικές αναλύσεις δειγμάτων νερού εβδομαδιαίως ώστε να γνωρίζουμε τη συγκέντρωση όλων των θρεπτικών στοιχείων του κάθε ενυδρειοπονικού συστήματος, εντοπίζονταν οι ελλείψεις και προστίθενται οι αντίστοιχες ποσότητες. Προκειμένου να επιτυγχάνεται ο στόχος των 2mg/L Fe προστέθηκαν συνολικά σε κάθε σύστημα 8g σιδήρου της μορφής DTPA 11% στο θρεπτικό διάλυμα όλων των ενυδρειοπονικών συστημάτων. Επίσης, στα φυτά εφαρμόστηκε κάλιο (SEISIL K₂O 2ml/L ψεκαστικού) με ψεκασμό φυλλώματος συνολικά περίπου 10ml αλλά και ασβεστό (CaO LASTINC Ca Δόση 1,5ml/0.5L νερό) συνολικά περίπου 19ml ανάλογα με τις ανάγκες.

3.5 Μετρήσεις

3.5.1 Αναπτυξιακές

Καθ' όλη τη διάρκεια της ανάπτυξης και μέχρι την τελική συγκομιδή των φυτών βασιλικού, πραγματοποιούνταν κάθε εβδομάδα μετρήσεις μορφολογικών παραμέτρων όπως: το ύψος των φυτών αλλά και ο αριθμός των πλάγιων κλάδων των φυτών σε κάθε ενυδρειοπονικό σύστημα για κάθε μεταχείριση. Επιπλέον, κατά την πρώτη κοπή (day 30) καταγράφηκε το νωπό βάρος του βλαστού και των φύλλων αλλά και κατά τη συγκομιδή, όσον αφορά το υπέργειο τμήμα πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις νωπού και ξηρού βάρους φύλλων ενώ για το υπόγειο τμήμα, ζυγίστηκε και το ξηρό βάρος ριζών. Οι ρίζες καθαρίστηκαν με νερό ώστε να απομακρυνθεί το υπόστρωμα και ακολούθησε 48ωρη ξήρανση σε ξηραντήριο στους 80°C τόσο του υπόγειου όσο και του υπέργειου μέρους του φυτού.

3.5.2 Προσδιορισμός χλωροφυλλών

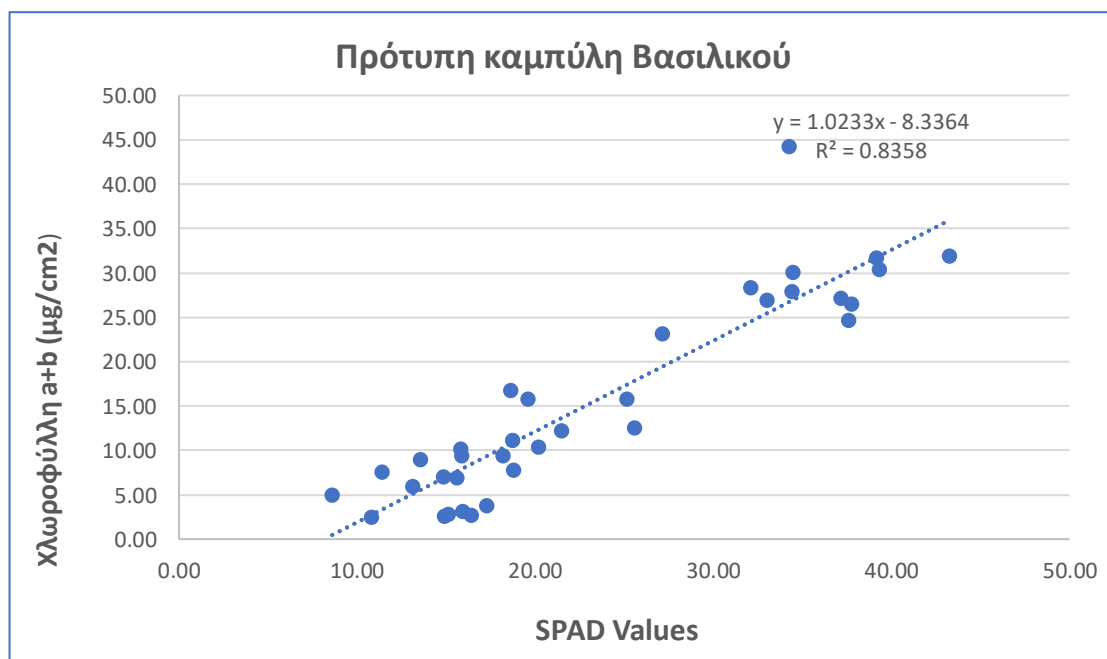
Η συγκέντρωση των χλωροφυλλών προσδιορίστηκε εμμέσως, μη καταστροφικά, με φορητό χλωροφυλλόμετρο (SPAD-502, Minolta Co Ltd., Japan). Η μέτρηση με το συγκεκριμένο όργανο βασίζεται στη σύγκριση της διαπερατότητας του φύλλου σε δύο μήκη κύματος, στα 650 nm όπου απορροφά η χλωροφύλλη και στα 940 nm, όπου δεν απορροφά κανένα συστατικό του φύλλου. Οι προκύπτουσες τιμές είναι ανάλογες της συγκέντρωσης της χλωροφύλλης στα φύλλα. Καθώς το χλωροφυλλόμετρο δίνει σχετικές τιμές, είναι αναγκαία η βαθμονόμηση του με τις πραγματικές συγκεντρώσεις χλωροφυλλών που προκύπτουν από την κλασσική φασματοφωτομετρική μέθοδο (Lichtenthaler and Wellburn, 1983). Η προκύπτουσα πρότυπη καμπύλη (τιμές SPAD έναντι πραγματικών συγκεντρώσεων χλωροφυλλών) είναι μοναδική για κάθε φυτικό είδος και το γεγονός αυτό έχει αποδοθεί στην πολυπλοκότητα του μονοπατιού διέλευσης του φωτός μέσα στο φύλλο (Manetas *et al.*, 1998).

Προκειμένου να κατασκευαστεί η πρότυπη καμπύλη, η συγκέντρωση των φωτοσυνθετικών χρωστικών μετρήθηκε σε φύλλα καλαμποκιού από σημεία στα οποία καταγράφηκε και η τιμή SPAD. Για την επακόλουθη εκχύλιση, τα δείγματα

τοποθετήθηκαν σε γουδί πορσελάνης μαζί με μικρή ποσότητα (0,5g) καθαρής άμμου και ανθρακικού ασβεστίου (CaCO_3 0,1g). Τα φύλλα εκχυλίστηκαν με 5ml ακετόνης 80%, τα οποία προστέθηκαν σταδιακά. Τα εκχυλίσματα μεταγγίστηκαν σε σωλήνες φυγόκεντρου και τα δείγματα φυγοκεντήθηκαν για 10min στα 2500g (4000 στροφές ανά λεπτό). Τα διαυγή πράσινα υπερκείμενα μεταγγίστηκαν σε ογκομετρικούς σωλήνες και καταγράφηκαν οι όγκοι τους. Τα υπερκείμενα φωτομετρήθηκαν με φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης στα 470, 646, 663 και 720nm και καταγράφηκαν οι απορροφήσεις αυτών αφού πρώτα αραιώθηκαν 3 φορές. Υπολογίστηκαν οι συγκεντρώσεις σε χλωροφύλλη a και χλωροφύλλη b σε $\mu\text{g/ml}$ διαλύματος με βάση τις ακόλουθες εξισώσεις (Lichtenthaler and Wellburn, 1983):

$$\text{Ca} = 12.21A_{663} - 2.81A_{646}$$

$$\text{Cb} = 20.13A_{646} - 5.03A_{663}$$



3.6 Φυσιολογικές

3.6.1 Φθορισμός χλωροφύλλης *a in vivo*

Ο φθορισμός χλωροφύλλης *a in vivo* είναι μια μη επεμβατική μέτρηση της δραστηριότητας του φωτοσυστήματος II (PSII) και είναι μία από τις πιο δημοφιλείς τεχνικές στη φυσιολογία των φυτών λόγω της ευκολίας με την οποία ο χρήστης μπορεί να αποκτήσει λεπτομερείς πληροφορίες (Murchie and Lawson, 2013). Η μέτρηση πραγματοποιήθηκε με το φθορισμόμετρο συνεχούς διέγερσης Handy-PEA (Hansatech Instruments Ltd, King's Lynn, Norfolk, UK) (Εικόνα).

Το συγκεκριμένο όργανο αποτελείται από μια κεντρική μονάδα και μια κεφαλή που φέρει τρεις λαμπτήρες τύπου LED. Η κεφαλή προσαρμόζεται απόλυτα στους ειδικούς υποδοχείς (leaf clips), οι οποίοι διαθέτουν ειδικό κλείστρο, που επιτρέπει ή αποκλείει τη διέλευση φωτισμού. Η μέγιστη ένταση του φωτός διέγερσης που μπορεί να εκπέμψει από τους λαμπτήρες φτάνει τα $3000 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, με μέγιστο εκπομπής στα 650 nm. Ο εκπεμπόμενος φθορισμός του δείγματος ανιχνεύεται στα 700 nm από έναν ειδικό ανιχνευτή που εντοπίζεται στο κέντρο της κεφαλής. Μήκη κύματος μικρότερα των 700 nm (ανακλώμενο φως) δεν επηρεάζουν την ανίχνευση, καθώς παρεμποδίζονται από ειδικό φίλτρο. Η αρχή λειτουργίας του οργάνου στηρίζεται στην ιδιότητα των λαμπτήρων LED να εκπέμπουν σταθερή ένταση φωτός περιορισμένου φασματικού εύρους. Αντιστοίχως, ο εκπεμπόμενος φθορισμός εντοπίζεται πάντα σε μεγαλύτερα μήκη κύματος από αυτά της πηγής. Συνεπώς, η ανίχνευση του φθορισμού γίνεται βάσει του μήκους κύματος και όχι της συχνότητας εκπομπής του. Απαραίτητη προϋπόθεση αυτής της αρχής λειτουργίας είναι ο φωτοσυνθετικός ιστός να μη δέχεται ακτινοβολία άλλης πηγής. Τα φθορισμόμετρα συνεχούς διέγερσης παρέχουν τη δυνατότητα μέτρησης της ταχείας φάσης επαγωγής του φθορισμού της χλωροφύλλης σε προσκοτεινιασμένους ιστούς. Οι πληροφορίες που προκύπτουν από την ανάλυση της ταχείας φάσης του φθορισμού απαντούν σε ερωτήματα για τις επιμέρους αποδόσεις και ροές ενέργειας κατά μήκος της αλυσίδας ροής ηλεκτρονίων των φωτεινών αντιδράσεων.

Απαραίτητη προϋπόθεση αυτής της αρχής λειτουργίας είναι ο φωτοσυνθετικός ιστός να μη δέχεται ακτινοβολία, για αυτό το λόγο οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν τις πρωινές ώρες, πριν ανοίξουν οι λαμπτήρες. Η μέτρηση αυτή πραγματοποιήθηκε

οχτώ φορές κατά τη διάρκεια του πειράματος, σε ώριμο φύλλο και συνολικά σε όλα τα φυτά σε κάθε σύστημα.



Εικόνα 5. Φθορισμόμετρο συνεχούς διέγερσης Handy-PEA. Αποτελείται από την κεντρική μονάδα και την κεφαλή με τους λαμπτήρες τύπου LED. Η κεφαλή προσαρμόζεται στους ειδικούς υποδοχείς (leaf clips) με το κλείστρο.

Οι παράμετροι που καταγράφονταν ήταν:

- **Fv/Fm**: μέγιστη φωτοχημική απόδοση του PSII
- **PI total**: δείκτης απόδοσης της μετατροπής ενέργειας από τα φωτόνια που απορροφώνται από τη φωτοσυλλεκτική κεραία του PSII έως την αναγωγή των τελικών αποδεκτών του φωτοσυστήματος I (PSI)
- **1-VI**: συνολικό απόθεμα ενεργών κέντρων του PSI

3.6.2 Ανακλαστικότητα

Η μέτρηση της ανακλαστικότητας έγινε με τη χρήση φορητού φασματοραδιόμετρου PlantPen PRI 210 που παρέχει τη δυνατότητα πολλαπλών μετρήσεων σε μικρές επιφάνειες του προς μελέτη φυτικού ιστού (Εικόνα). Το συγκεκριμένο όργανο μετρά τον Δείκτη Φωτοχημικής Ανακλαστικότητας (PRI) σε δύο στενές ζώνες μήκους κύματος κοντά στα 531 nm και 570 nm. Ο δείκτης PRI προκύπτει από τον λόγο της διαφοράς της ανακλαστικότητας στα 531 και 570 nm προς το άθροισμά τους και έχει ως εξής: $PRI = (R_{531} - R_{570}) / (R_{531} + R_{570})$ (Gamon et al., 1992). Η μέτρηση αυτή πραγματοποιήθηκε οχτώ φορές κατά τη διάρκεια του πειράματος, πριν την έκθεση των φυτών στο φως και συνεπώς πριν την έναρξη της

φωτοσύνθεσης, αλλά το μεσημέρι, σε ένα φύλλο ανά φυτό, και συνολικά όλα τα φυτά ανά σύστημα.

Οι παράμετροι που μετρήθηκαν ήταν:

- **PRI** : Photochemical Reflectance Index, $PRI = (R531 - R570) / (R531 + R570)$ Δείκτης φωτοσυνθετικής απόδοσης (Penuelas et al., 1995)
- **ΔPRI**: PRI(μεσημέρι) - PRI(πρωί) (Κονάς et al., 2018)



Εικόνα 6. Φασματοραδιόμετρο PlantPen PRI 210.

3.7 Ολικά φαινολικά

Σημαντικό θα ήταν να αναφερθεί ότι, οι φαινολικές ενώσεις είναι ουσίες που παράγονται κατά τον δευτερογενή μεταβολισμό των φυτών και αντικατοπτρίζει την ανάγκη προστασίας πρωτογενών μεταβολικών διεργασιών έναντι των παρενεργειών λόγω stress που προκαλείται από τη δράση αβιοτικών παραγόντων. Η παραγωγή ορισμένων δευτερογενών μεταβολιτών σχετίζεται επίσης και με την έντονη οξειδωτική καταπόνηση των φυτών (αύξηση των τοξικών για τα κύτταρα ενεργών μορφών οξυγόνου, Reactive oxygen species - ROS).

Στον παρόν πείραμα, εβδομαδιαία γίνονταν συλλογή 1 φύλλου από 3 φυτά κάθε συστήματος ώστε να ελέγχεται τακτικά η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών. Στη συνέχεια, τοποθετούνταν στον φούρνο για >12h και ακολουθώντας τη φασματοφωτομετρική μέθοδο Folin-Ciocalteu και καταγράφονταν τα ολικά φαινολικά των επιμέρους δειγμάτων (Waterman & Mole, 1994). Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν είναι:

- Μεθανόλη (6ml/δείγμα)
- Αντιδραστήριο Folin-Ciocalteu (0,25ml/δείγμα)

- Διάλυμα Na_2CO_3^- : 20g σε 100ml νερού (0,75ml/δείγμα)

Αμέσως μετά ξεκινούσε η διαδικασία της εκχύλισης. Αρχικά, ζυγίστηκαν 50mg κονιορτοποιημένου ξηρού δείγματος και τοποθετήθηκαν σε πλαστικούς δοκιμαστικούς σωλήνες. Αμέσως μετά, προστέθηκαν 6ml υδατικού διαλύματος μεθανόλης 50%, σφραγίστηκαν και επώαστηκαν σε υδατόλουτρο στους 40°C για 1h, υπό ήπια ανάδευση τα δείγματα πέρασαν από χάρτινο φίλτρο με τη βοήθεια χωνιού και το διαυγές διάλυμα παραλήφθηκε σε νέους (μικρούς) δοκιμαστικούς σωλήνες. Όσον αφορά την αντίδραση, σε μεγαλύτερου μεγέθους δοκιμαστικούς σωλήνες προστέθηκαν:

- 3,95 ml απιονισμένου νερού
- 0,05 ml του υπερκείμενου
- 0,25 ml αντιδραστήριου Folin-Ciocalteu

(στο τυφλό διάλυμα σε αντικατάσταση των 0,05ml του υπερκείμενου, προστέθηκαν 0,05ml υδατικού διαλύματος μεθανόλης 50%). Ακολούθησε φυγοκέντρηση (Vortex) των δειγμάτων και σταδιακή προσθήκη 0,75ml διαλύματος ανθρακικού νατρίου σε 1-8 min. Έπειτα, τα δείγματα επώαστηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για 2h και τέλος σε 1-8 min μετρήθηκε η απορρόφηση τους στα 760nm.

$$\text{GAE (mg/g)} = C * V/M$$

όπου	C	η τιμή GA σε mg/ml όπως προκύπτει από την πρότυπη
	V	ο όγκος εκχυλίσματος που χρησιμοποιείται (50λ=0,05ml)
	M	τα g του ιστού

Η μέθοδος αυτή, ανιχνεύει το σύνολο των -OH που υπάρχουν σ' ένα διάλυμα. Βασίζεται στην ικανότητα των φαινολικών ενώσεων να ανάγουν ενώσεις του φωσφομολυβδαινικού οξέος και του φωσφοβολφραμικού οξέος που περιέχονται στο αντιδραστήριο Folin Ciocalteu. Από την τιμή της απορρόφησης των ενώσεων σε φωτόμετρο στα 760nm, προσδιορίζεται η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών ενώσεων. Κατά την εφαρμογή της μεθόδου, γίνεται προσθήκη διαλύματος ανθρακικού

νατρίου (Na_2CO_3 Sigma Aldrich), επειδή η αναγωγική δράση των φαινολικών επιτυγχάνεται σε αναγωγικό περιβάλλον (Φυσικόπουλος & Κουτσούκος, 2011).

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των ολικών φαινολικών γίνεται με τη βοήθεια πρότυπης καμπύλης γαλλικού οξέος, ενώ δεν είναι δυνατή η ταυτοποίηση κάθε ένωσης ξεχωριστά. Η συγκέντρωση ολικών φαινολικών εκφράζεται σε mg ισοδύναμου γαλλικού οξέος ανά g ξηρής ουσίας. Η ποσότητα δείγματος και διαλύματος αντιδραστηρίου FC, καθώς και το μήκος κύματος που μετράται η απορρόφηση προσαρμόζονται ανάλογα με την περίπτωση και τις συνθήκες του πειράματος (Sokmen et al., 2005; Peng Wong et al., 2005).

Στατιστική Ανάλυση

Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS 26, έγινε έλεγχος κανονικότητας του δείγματος και έπειτα επιλέχθηκε το «Independent-Samples t-test» ή «Independent-Samples non parametric test» στην περίπτωση που το δείγμα δεν πληρούσε κανονική κατανομή. Οι τιμές των παραμέτρων που προσδιορίστηκαν ελέγχθηκαν για την ομοιογένεια της διασποράς τους μέσω του Levene's test ή μέσω του Mann-Whitney αντίστοιχα.

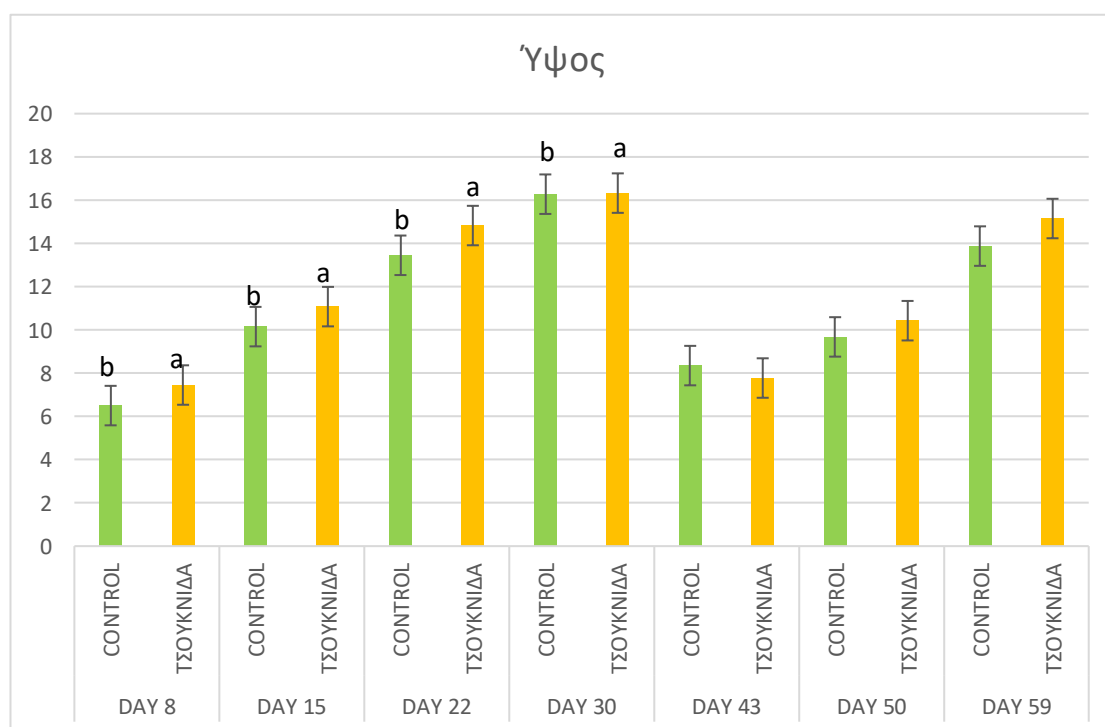
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1. Ενδιάμεσες μετρήσεις

4.1.1 Μορφολογικές – αναπτυξιακές μετρήσεις

Ύψος και Αριθμός Κλάδων

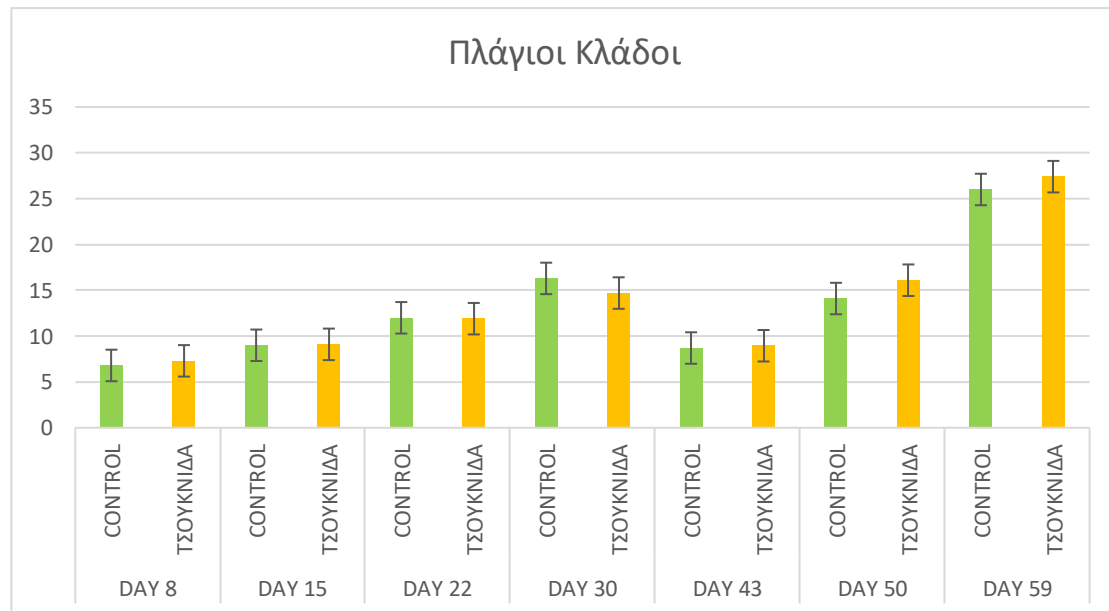
Στο Γράφημα 1, παρουσιάζεται ο μέσος όρος του ύψους (cm) των φυτών κατά τις επτά δειγματοληψίες για κάθε μεταχείριση. Σύμφωνα με το γράφημα, ο μέσος όρος του ύψους των φυτών την τέταρτη δειγματοληψία ήταν υψηλότερος σε σύγκριση με τον μέσο όρο των υπόλοιπων μετρήσεων. Όσον αφορά τις μεταχειρίσεις (Control, Τσουκνίδα), φαίνεται να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ τους κατά τις τέσσερις πρώτες μετρήσεις.



Γράφημα 1: Ύψος φυτών (Μέσος Όρος \pm Τυπικό Σφάλμα) των μεταχειρίσεων καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος. Τα διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές λόγω του είδους του νερού (για $\text{sig} < 0,05$).

Επιπλέον, καταμετρήθηκε και ο μέσος όρος αριθμού των πλάγιων κλάδων σε κάθε δειγματοληψία για κάθε μεταχείριση. Όσον αφορά τις μετρήσεις, όπως

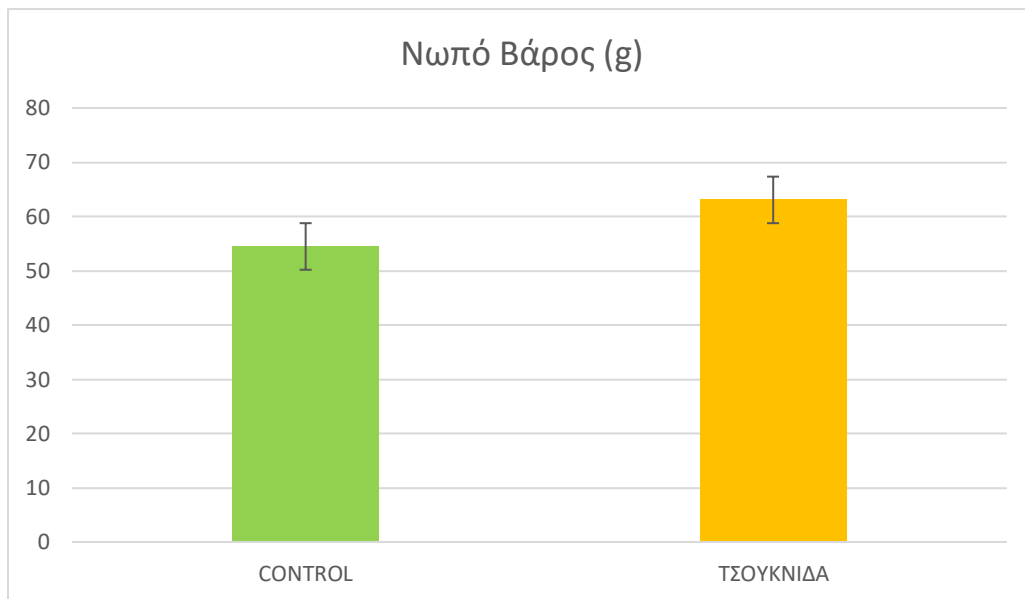
παρουσιάζεται και στο Γράφημα 2 φαίνεται ότι οι επιμέρους μεταχειρίσεις (Control, Τσουκνίδα) δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές.



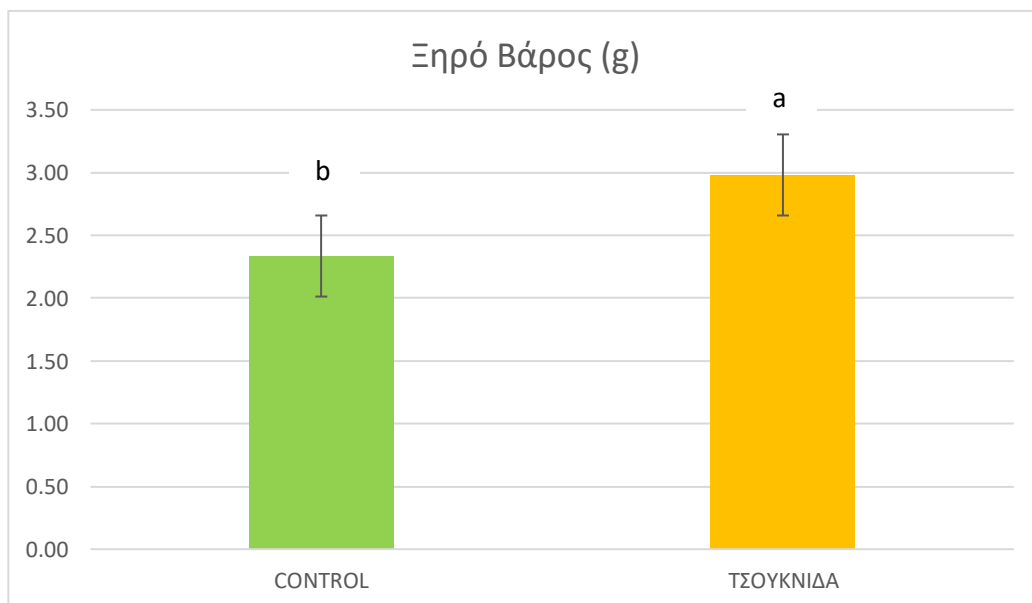
Γράφημα 2: Αριθμός Κλάδων (Μέσος όρος ± Τυπικό Σφάλμα) των μεταχειρίσεων καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος.

Νωπό και Ξηρό Βάρος

Κατά την ενδιάμεση κοπή που πραγματοποιήθηκε στη διάρκεια του πειράματος ζυγίστηκε το νωπό βάρος του υπέργειου μέρους του βασιλικού που αφαιρέθηκε. Στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων δεν παρατηρήθηκαν (Γράφημα 3). Έπειτα, τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε φούρνο ώστε να υπολογιστεί το ξηρό τους βάρος και φαίνεται να διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ των μεταχειρίσεων ($F=2,908$, sig. $<0,05$) (Γράφημα 4).



Γράφημα 3: Νωπό βάρος έπειτα από την κοπή (Μέσος Όρος \pm Τυπικό Σφάλμα) των μεταχειρίσεων.



Γράφημα 4: Ξηρό βάρος κατά την κοπή (Μέσος Όρος \pm Τυπικό Σφάλμα) των μεταχειρίσεων. Τα διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές λόγω του είδους του νερού (για $\text{sig} < 0,05$).

4.1.2 Φυσιολογικές μετρήσεις

Spad

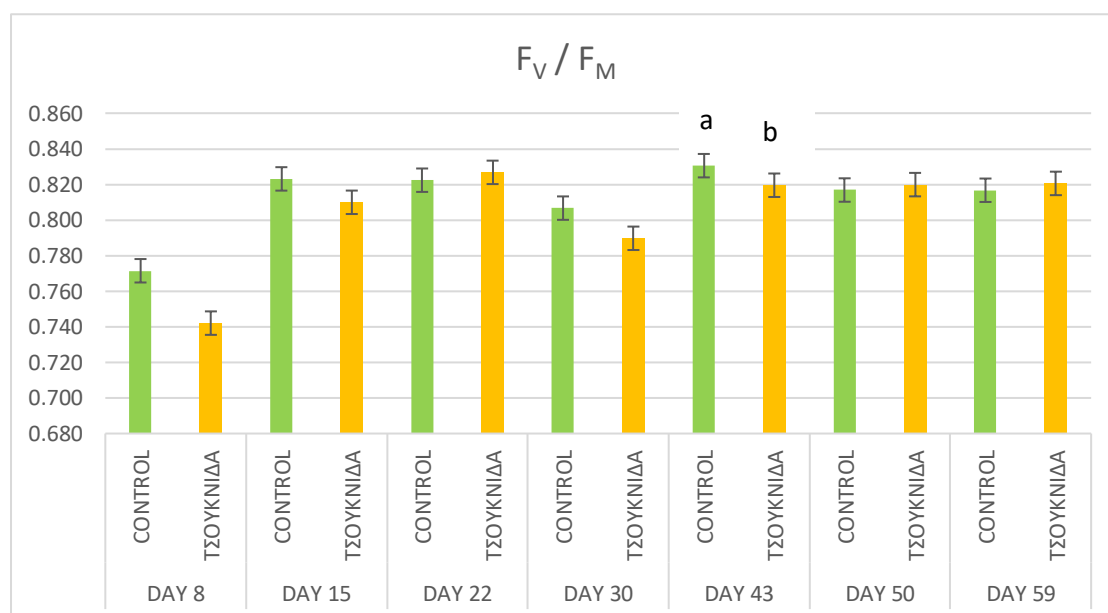
Οι τιμές SPAD που λήφθηκαν καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος τόσο σε νεαρά όσο σε ώριμα και παλιά φύλλα, σχετίζονται με την περιεχόμενη χλωροφύλλη στα φύλλα αυτά. Δεν παρατήρηθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο μεταχειρίσεων (Πίνακας 4). Σημαντικό θα ήταν επίσης να αναφερθεί ότι, οι υψηλότερες τιμές SPAD καταγράφηκαν στα νεαρά φύλλα και των δυο μεταχειρίσεων καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος.

Πίνακας 4. Τιμές SPAD (Μέσος Όρος \pm τυπικό σφάλμα) σε νεαρό, ώριμο και παλιό φύλλο καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος.

SPAD						
ΝΕΑΡΟ ΦΥΛΛΟ			ΩΡΙΜΟ ΦΥΛΛΟ		ΠΑΛΙΟ ΦΥΛΛΟ	
DAY	Control	Τσουκνίδα	Control	Τσουκνίδα	Control	Τσουκνίδα
8	26 \pm 1,56	25,72 \pm 1,36	26,33 \pm 1,17	23,9 \pm 1,29	25,63 \pm 1,11	25,85 \pm 1,27
15	25,8 \pm 0,83	25,19 \pm 1,34	22,57 \pm 1 a	19,36 \pm 1,08 b	24,64 \pm 1,11	25,19 \pm 1,34
22	30,06 \pm 0,79	29,5 \pm 0,86	28,84 \pm 0,96	28,9 \pm 1,24	26,35 \pm 0,7	26,63 \pm 1,02
30	31,24 \pm 1,03	33,22 \pm 0,78	30,6 \pm 0,83	31,41 \pm 1,21	26,5 \pm 1,14	27,15 \pm 0,87
43	23,67 \pm 1,36	23,19 \pm 1,1	23,39 \pm 1,27	24,3 \pm 1,21	22,12 \pm 1,45	24,46 \pm 1,16
50	31,82 \pm 1,92	31,58 \pm 1,25	32,09 \pm 1,26	30,17 \pm 1,22	27,73 \pm 1,11	28,32 \pm 1,43
59	33,41 \pm 1,03	31,46 \pm 1,31	30,72 \pm 1,67	31,86 \pm 0,95	28,16 \pm 1,41	26,44 \pm 1,2

Φθορισμός χλωροφύλλης *a in vivo*

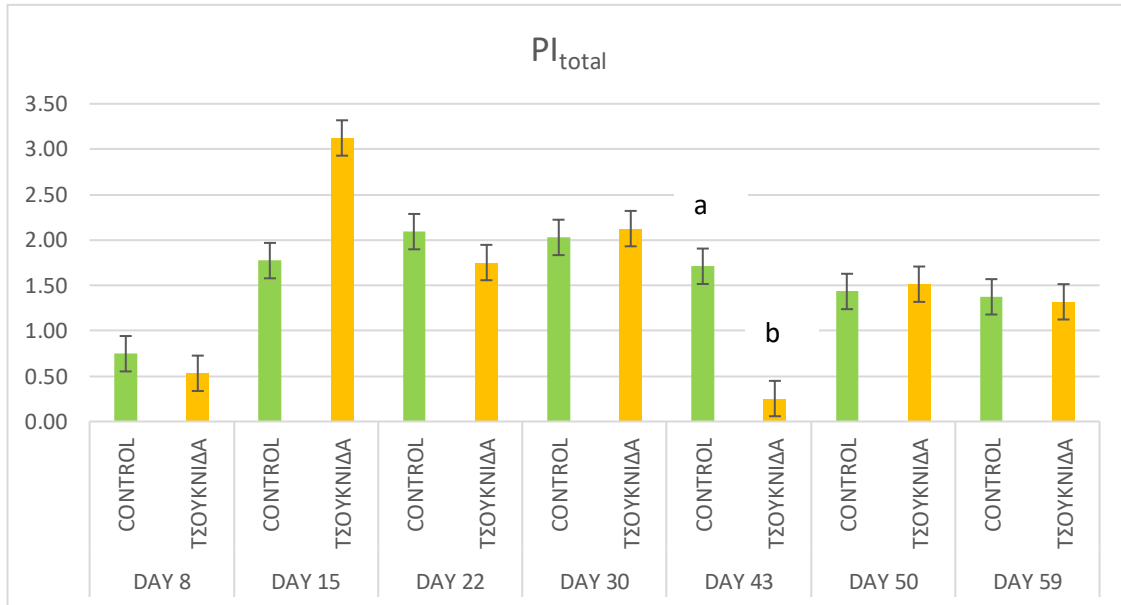
Ο λόγος F_v/F_m πρέπει να παίρνει τιμές από την περιοχή του 0,8 και κάτω. Όσο απομακρύνεται από αυτή την τιμή (προς τα κάτω) σημαίνει ότι το φυτό βρίσκεται σε κατάσταση καταπόνησης. Στο Γράφημα 5 παρουσιάζονται οι τιμές του F_v/F_m , οι οποίες φαίνεται να κυμαίνονται κοντά στην περιοχή του 0,8 με εξαίρεση τις τιμές της πρώτης μέτρησης που ενδέχεται να οφείλονται στην προσπάθεια των φυτών να εγκλιματιστούν στις νέες συνθήκες. Επίσης, την 43^η ημέρα του πειράματος καταγράφηκαν οι υψηλότερες τιμές του λόγου F_v/F_m , στις οποίες παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων.



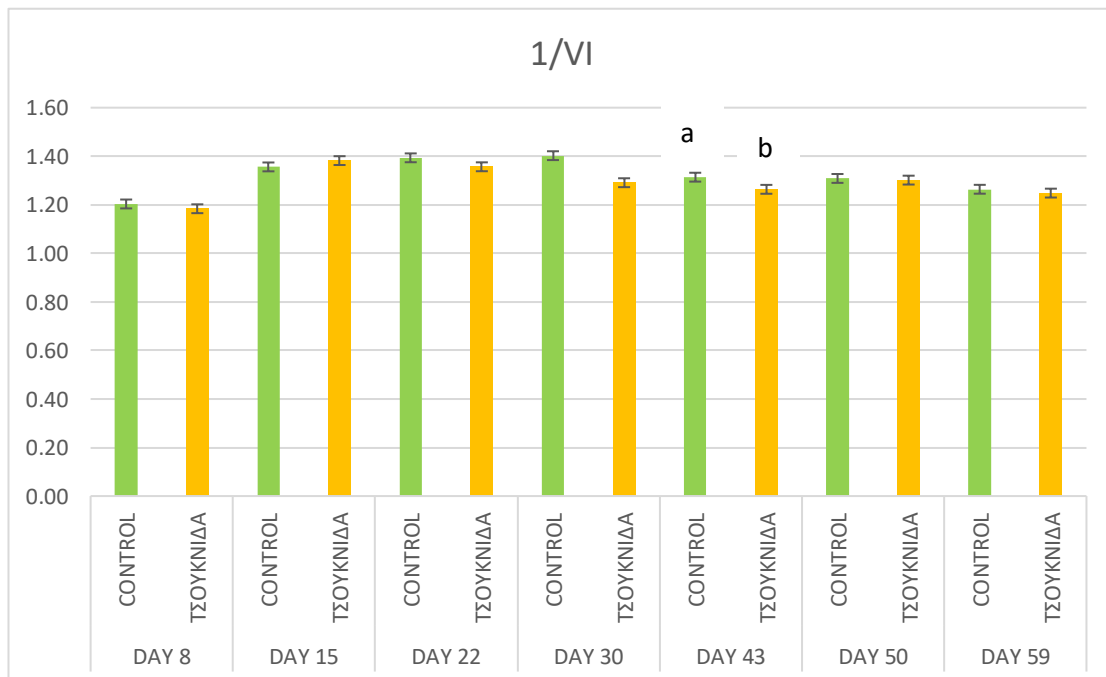
Γράφημα 5. Η παράμετρος φθορισμού F_v/F_m των μεταχειρίσεων καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος (Μέσος Όρος ± Τυπικό Σφάλμα). Τα διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο $p < 0,05$.

Η συνολική φωτοσυνθετική ικανότητα που υποδεικνύεται με το δείκτη PI_{total} όπως φαίνεται στο παρακάτω Γράφημα εκτός από την 43^η ημέρα του πειράματος δεν παρουσίασε στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Κατά την 5^η μέτρηση, φαίνεται ότι ο δείκτης φωτοσυνθετικής απόδοσης διέφερε στατιστικά μεταξύ των δυο μεταχειρίσεων ($F=34,653$, $sig < 0,05$). Επιπλέον, οι τιμές της παραμέτρου που σχετίζεται με το μέγεθος των τελικών υποδοχέων e^- του PSI, $1/VI$ φαίνεται πως μετά την 8^η ημέρα πειράματος να αυξάνεται και να έχει σχεδόν σταθερή τιμή με εξαίρεση την 43^η ημέρα όπου

παρατηρούνται στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων ($F=7,490$, $sig<0,05$).



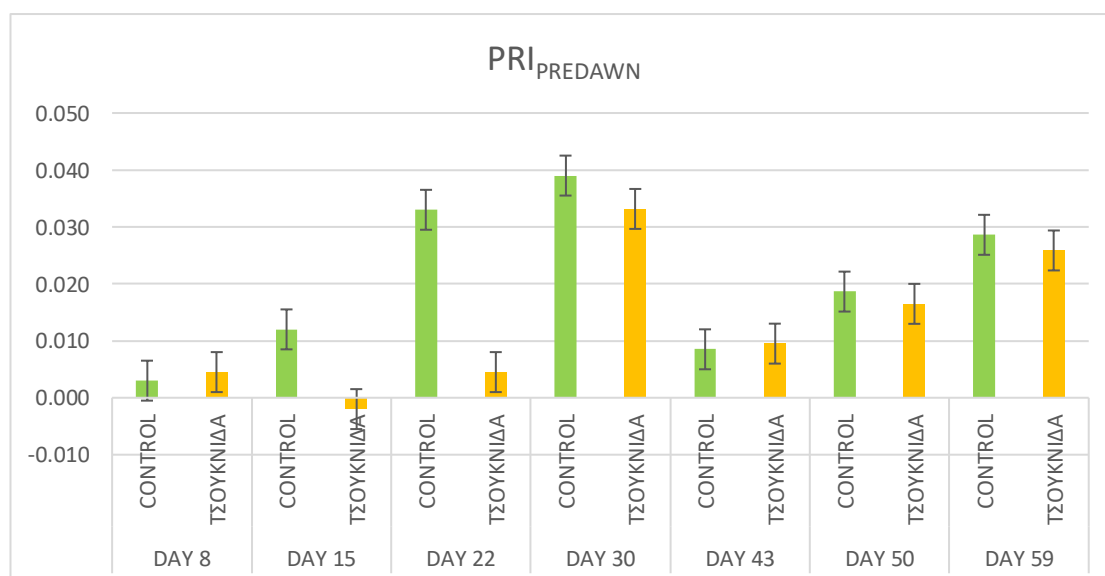
Γράφημα 6. Η παράμετρος φθορισμού PI_{total} των μεταχειρίσεων καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος (Μέσος Όρος \pm Τυπικό Σφάλμα). Τα διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο $p<0,05$.



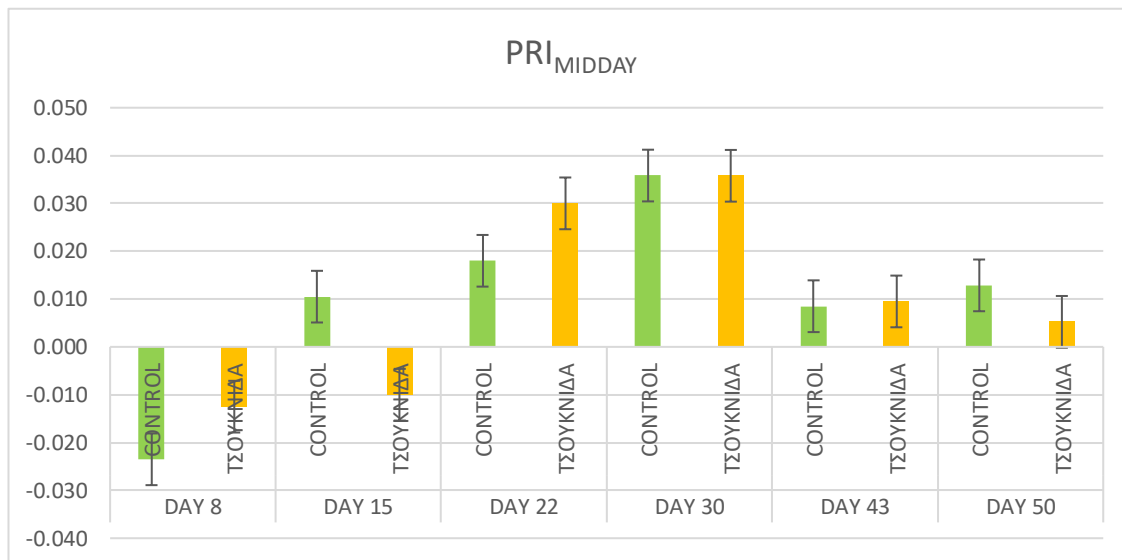
Γράφημα 7. Η παράμετρος φθορισμού $1/VI$ των μεταχειρίσεων (Μέσος Όρος \pm Τυπικό σφάλμα) καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος. Τα διαφορετικά γράμματα υποδεικνύουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε επίπεδο $p<0,05$.

Ανακλαστικότητα

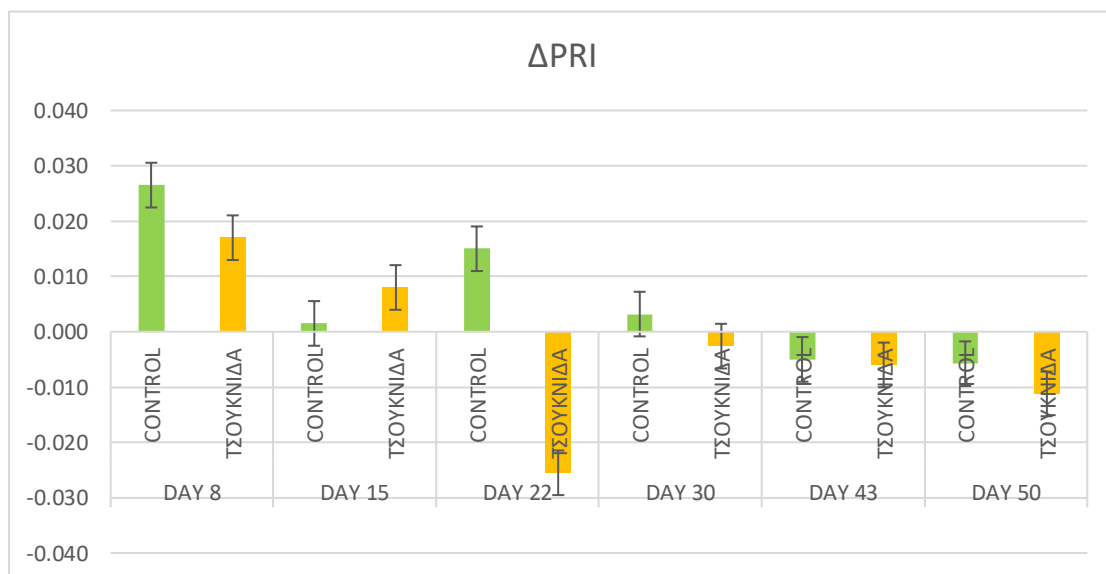
Οι μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν στα φύλλα του βασιλικού ως προς το δείκτη ανακλαστικότητας PRI, ο οποίος παρέχει μια εκτίμηση της φωτοσυνθετικής απόδοσης, έδειξαν πως κατά την πρώτη μέτρηση οι τιμές με παρουσία φωτός (Midday) είναι πολύ χαμηλές και πιο συγκεκριμένα πιο χαμηλές από τις μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν σε πλήρες σκοτάδι (Predawn) με αποτέλεσμα η φωτοσυνθετική συσκευή να ανακάμπτει το πρωί. Οι υπόλοιπες μετρήσεις που ακολούθησαν παρουσίασαν ανάλογες τιμές με παρουσία και μη φωτός και δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Επιπλέον, υπολογίστηκε ο δείκτης ΔPRI που προκύπτει από τη διαφορά των τιμών του δείκτη ανακλαστικότητας με την παρουσία φωτός από τις αντίστοιχες τιμές χωρίς, οι οποίες δεν διέφεραν στατιστικώς σημαντικά.



Γράφημα 8. Τιμές δείκτη PRI των μεταχειρίσεων (Μέσος Όρος \pm Τυπικό σφάλμα) κατά την απουσία φωτός καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος.



Γράφημα 9. Τιμές δείκτη PRI των μεταχειρίσεων (Μέσος Όρος ± Τυπικό σφάλμα) κατά την παρουσία φωτός καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος.



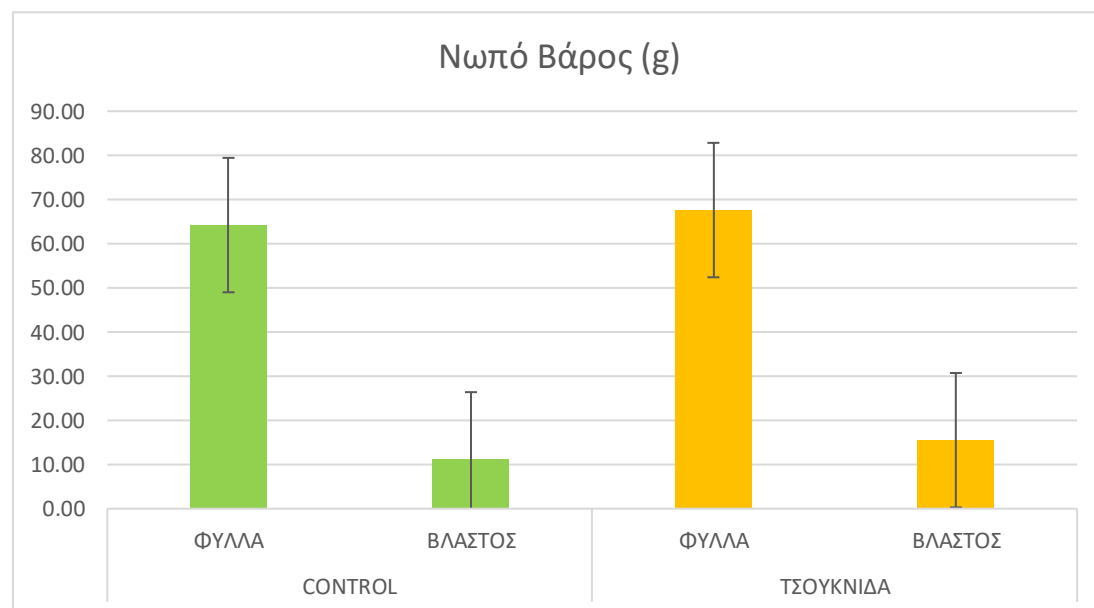
Γράφημα 10. Τιμές δείκτη ΔPRI των μεταχειρίσεων (Μέσος Όρος ± Τυπικό σφάλμα) καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος.

4.2 Τελικές μετρήσεις

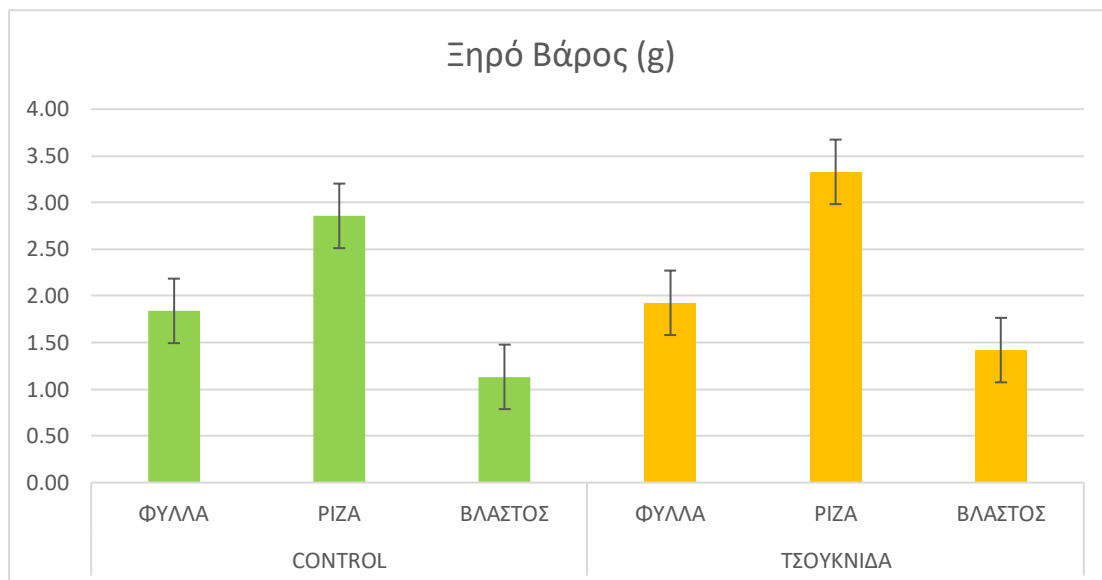
4.2.1 Μορφολογικές – αναπτυξιακές μετρήσεις

Νωπό και ξηρό βάρος

Στο Γράφημα 11 που ακολουθεί, παρουσιάζονται οι μέσοι όροι του νωπού βάρους των φύλλων (Control: $64,22 \pm 4,57$, Τσουκνίδα: $67,61 \pm 4,55$) και των βλαστών (Control: $11,17 \pm 1,44$, Τσουκνίδα: $15,5 \pm 2,55$) κατά τη συγκομιδή αντίστοιχα. Δεν εμφανίστηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των μεταχειρίσεων. Έπειτα, στο Γράφημα 12 απεικονίζεται το ξηρό βάρος των φύλλων, των βλαστών αλλά και των ριζών κατά τη συγκομιδή. Σημαντικό θα ήταν να αναφερθεί ότι οι μεταχειρίσεις δεν διέφεραν στατιστικώς σημαντικά.



Γράφημα 11: Νωπό βάρος φύλλων και βλαστού (Μέσος όρος \pm Τυπικό Σφάλμα) των μεταχειρίσεων κατά τη συγκομιδή.

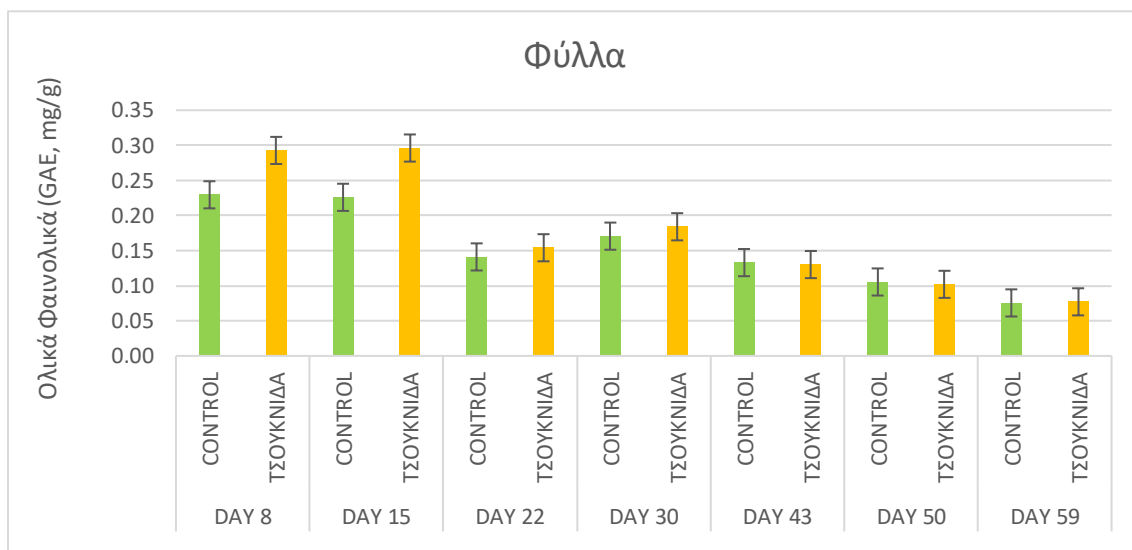


Γράφημα 12: Ξηρό βάρος φύλλων, βλαστού και ρίζας (Μέσος όρος \pm Τυπικό Σφάλμα) των μεταχειρίσεων κατά τη συγκομιδή.

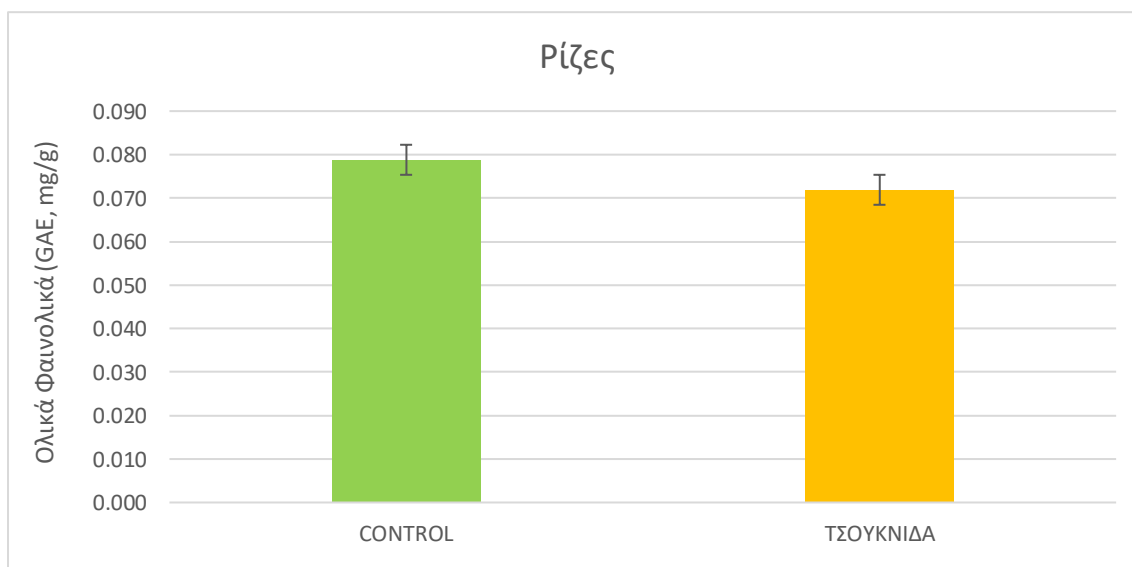
4.2.2 Βιοχημικές μετρήσεις

Ολικά φαινολικά

Στο παρακάτω Γράφημα παρουσιάζεται η μέση συγκέντρωση ολικών φαινολικών που καταγράφηκαν στα φύλλα των φυτών της κάθε μεταχείρισης καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος ενώ στο επόμενο Γράφημα παρουσιάζεται η μέση συγκέντρωση ολικών φαινολικών στις ρίζες μετά τη συγκομιδή. Όσον αφορά τα φύλλα, μεγαλύτερες συγκεντρώσεις παρατηρούνται κατά τις πρώτες μέρες του πειράματος παρ'όλα αυτά όμως δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Τέλος, οι συγκεντρώσεις των ολικών φαινολικών δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ των μεταχειρίσεων.



Γράφημα 13. Συγκέντρωση ολικών φαινολικών των φύλλων (Μέσος Όρος \pm Τυπικό σφάλμα) εκφρασμένα ως ισοδύναμα mgγαλλικού οξέος προς τα g του ξηρού δείγματος καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος.



Γράφημα 14. Συγκέντρωση ολικών φαινολικών των ριζών (Μέσος Όρος \pm Τυπικό σφάλμα) εκφρασμένα ως ισοδύναμα mgγαλλικού οξέος προς τα g του ξηρού δείγματος κατά τη συγκομιδή.

5. Συζήτηση και συμπεράσματα

Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε και αξιολογήθηκε η επίδραση δυο διαφορετικών ιχθυοτροφών στην ανάπτυξη, στη φυσιολογία αλλά και στην καταπόνηση του πλατύφυλλου βασιλικού (*Ocimum basilicum*) που αναπτύχθηκε σε ενυδρειοπονική καλλιέργεια εργαστηριακής κλίμακας.

Το συγκεκριμένο φυτό επιλέχθηκε γιατί σύμφωνα με αρκετές μελέτες (Rakocy et al., 2004; Roosta, 2014; Mangmang et al. 2016) είναι κατάλληλο για καλλιέργειες εκτός εδάφους (υδροπονικές ή ενυδρειοπονικές). Επιπλέον, ιδιαίτερα ενδιαφέρον παρουσίασε το αποτέλεσμα της έρευνας των Rakocy et al. (2004), όπου φυτά βασιλικού ανεπτυγμένα σε ενυδρειοπονική καλλιέργεια εμφάνισαν υψηλότερη απόδοση ($1,8 \text{ Kg m}^{-2}$) σε σχέση με αντίστοιχα που αναπτυχθήκαν στον αγρό ($0,6 \text{ Kg m}^{-2}$).

Ωστόσο, έχει παρατηρηθεί ότι σε ενυδρειοπονικές καλλιέργειες εμφανίζονται τροφοπενίες μικροστοιχείων και κυρίως σε Fe (Schmautz et al. 2015; Seawright et al. 1998; Fitzsimmons and Posadas; 1997), λόγω της μη διαθεσιμότητας της μορφής ιόντων σιδήρου και τότε απαιτείται συμπλήρωση από εξωτερικές πηγές θρεπτικών συστατικών.

Σημαντικό θα ήταν να αναφερθεί ότι ο σίδηρος στα ενυδρειοπονικά συστήματα παίζει σημαντικό ρόλο σε ένα ευρύ φάσμα λειτουργιών. Πιο συγκεκριμένα, στα φυτά, εμπλέκεται στη διαδικασία της φωτοσύνθεσης, στην ενεργοποίηση κάποιων ενζύμων, στη σύνθεση πρωτεϊνών αλλά επηρεάζει και το οσμωτικό δυναμικό (Scandalios, 1990; Kosegarten et al., 1998; Brand et al., 2000; Fernández et al., 2006). Είναι ένας σημαντικός παράγοντας πολλών ενζύμων, συμπεριλαμβανομένων αυτών που εμπλέκονται στη βιοσυνθετική οδό των χλωροφύλλων (Kosegarten et al., 1998; Vigani, 2012). Ο σίδηρος παίζει επίσης σημαντικό ρόλο στην ενεργοποίηση ορισμένων αντιοξειδωτικών ενζύμων που είναι ζωτικής σημασίας για την ρύθμιση της οξειδωτικής βλάβης από παράγοντες καταπόνησης στα φυτικά κύτταρα (Kosegarten et al., 1998). Η ανεπαρκής πρόσληψη Fe οδηγεί σε συμπτώματα τροφοπενίας όπως η μεσονεύρια χλώρωση σε φύλλα με νεκρωτικά τμήματα και παραμορφωμένα περιθώρια φύλλων γεγονός που οδηγεί στην υποβάθμιση της ποιότητας του προϊόντος αλλά μπορεί να επιφέρει και μείωση στην απόδοση της καλλιέργειας (Kosegarten et al., 1998; Somerville et al., 2014). Τέλος, ο χαμηλότερος φωτοσυνθετικός ρυθμός που παρατηρείται σε φύλλα με τροφοπενία σιδήρου οδηγεί σε χαμηλότερη στοματική

αγωγιμότητα και συνεπώς σε μείωση του ρυθμού διαπνοής και της αποδοτικότητας του φωτοσυστήματος II (Larbi et al., 2006).

Σύμφωνα όμως με τη βιβλιογραφία, η χρήση ιχθυοτροφών στην ενυδρειοπονία αποτελεί την κύρια πηγή θρεπτικών για τα φυτά. Τα απεκκρίματα των ψαριών και η διαλυτοποίηση των υπολειμμάτων τροφής παρέχουν τα απαραίτητα θρεπτικά στα φυτά που αναπτύσσονται σε ενυδρειοπονικά συστήματα (Robaina et al., 2019). Μάλιστα, έχει υπολογιστεί ότι μόνο το 5% της τροφής δεν καταναλώνεται από τα ψάρια ενώ το υπόλοιπο 95% προσλαμβάνεται από τους ιχθύες και έπειτα πέπτει (Khakyzadeh et al., 2015). Από το ποσοστό αυτό, το 30-40% μετατρέπεται σε βιομάζα των ιχθύων ενώ το 60-70% απελευθερώνεται σε μορφή κοπράνων, ουρίας και αμμωνίας (FAO, 2014).

Για το λόγο αυτό, στην παρούσα εργασία ερευνήθηκε η χρήση μιας ιχθυοτροφής που ήταν εμπλουτισμένη κατά 30% με τσουκνίδα, η οποία σύμφωνα με έρευνες είναι πλούσια πηγή θρεπτικών όπως, σίδηρος, ασβέστιο και κάλιο (Dhouibi et al., 2020). Η πλειοψηφία των δημοσιευμένων μέχρι στιγμής ερευνών εστιάζει κυρίως στις θετικές επιδράσεις τέτοιων τροφών στο ανοσοποιητικό σύστημα των ψαριών αλλά φαίνεται πως δεν υπάρχουν αρκετά δεδομένα για την επίδραση που ενδεχομένως να έχουν στα καλλιεργούμενα φυτά.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας, το ύψος των φυτών παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των μεταχειρίσεων κατά τις τέσσερις πρώτες εβδομάδες του πειράματος με μεγαλύτερες τιμές στα συστήματα όπου χορηγήθηκε η εμπλουτισμένη ιχθυοτροφή με τσουκνίδα. Αντίθετα, ο αριθμός πλάγιων κλάδων των φυτών βασιλικού δεν παρουσίασε διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων ενώ παρουσίασε σχεδόν διπλασιασμό έπειτα από την πρώτη κοπή (ημέρα 30) γεγονός φυσιολογικό εφόσον αναστάλθηκε η κυριαρχία κορυφής. Όσον αφορά τη βιομάζα των φυτών κατά την πρώτη κοπή φαίνεται πως παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μόνο στο ξηρό βάρος με μεγαλύτερες τιμές να παρατηρούνται σε φυτά των συστημάτων με την εμπλουτισμένη τροφή με τσουκνίδα. Ενδεχομένως, τα φυτά στα συστήματα με την τροφή control να διέθεταν μεγαλύτερη ποσότητα νερού στους ιστούς τους. Σημαντικό θα ήταν να αναφερθεί ότι, κατά την όγδοη ημέρα του πειράματος εμφανίστηκε μεσονεύρια χλώρωση στα νεαρά φύλλα των φυτών, η οποία γινόταν ολοένα εντονότερη σε όλα τα ενυδρειοπονικά συστήματα και στις δυο μεταχειρίσεις. Πραγματοποιήθηκε φυλλοδιαγνωστική ανάλυση, όπου παρατηρήθηκε τροφοπενία σιδήρου, καλίου και ασβεστίου. Προκειμένου να μην οδηγηθούν σε θάνατο τα φυτά,

εφαρμόστηκαν προσθήκες των συγκεκριμένων στοιχείων με διαφυλλικό ψεκασμό σε όλα τα ενυδρειοπονικά συστήματα και των δυο μεταχειρίσεων.

Τα επίπεδα χλωροφύλλης φάνηκαν να αυξάνονται ελαφρώς μετά την πρώτη βδομάδα του πειράματος, όπως προέκυψε από τις μετρήσεις SPAD σε κάθε σύστημα. Οι τιμές SPAD που λήφθηκαν καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος τόσο σε νεαρά και ώριμα όσο και σε παλιά φύλλα, σχετίζονται με την περιεχόμενη χλωροφύλλη στα φύλλα αυτά. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο μεταχειρίσεων. Σημαντικό θα ήταν επίσης να αναφερθεί ότι οι υψηλότερες τιμές SPAD καταγράφηκαν στα νεαρά φύλλα και των δυο μεταχειρίσεων, γεγονός που πιθανώς να οφείλεται στην επιτυχημένη πρόσληψη των θρεπτικών που προστέθηκαν. Τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης έρευνας όμως φαίνεται να μη συνάδουν με αυτά που παρουσιάστηκαν στην έρευνα της Μουραντιάν (2019), η οποία πραγματοποιήθηκε εξίσου σε φυτά βασιλικού αναπτυγμένου σε ενυδρειοπονική καλλιέργεια μικρής κλίμακας.

Οι δείκτες ανακλαστικότητας (Carter and Knapp, 2001) και φθορισμού (Lazár et al., 2006) έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς για την μη καταστροφική παρακολούθηση και ανίχνευση καταπόνησης στα φυτά. Το φαινόμενο του φθορισμού θα μπορούσε να οριστεί ως η εκπομπή ακτινοβολίας μακρότερου μήκους κύματος που συμβαίνει κατά την αποδιέγερση ενός e^- του μορίου της χλωροφύλλης από την πρώτη διεγερμένη κατάσταση στη βασική. Ο φθορισμός αποτελεί μόλις το 1-2% της συνολικής απορροφηθείσας ενέργειας και σε συνήθεις θερμοκρασίες δωματίου προέρχεται σχεδόν αποκλειστικά από την χλωροφύλλη του φωτοχημικού κέντρου του PSII (Krause & Weis, 1984). Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη παράμετρος φθορισμού είναι η F_v/F_m η οποία περιγράφει τη μέγιστη ανά φωτόνιο φωτοχημική απόδοση του φωτοσυστήματος II και σχετίζεται ευθέως με την κατάσταση της φωτοσυνθετικής συσκευής (Gallé et al., 2007). Υψηλές τιμές του δείκτη αυτού (0,85-0,75) υποδεικνύουν μία πλήρως λειτουργική κατάσταση της φωτοσυνθετικής συσκευής, με υψηλή ικανότητα παραγωγής φωτοχημικού έργου. Οι μειώσεις του δείκτη κάτω από το 0,75 παραπέμπουν σε καταπόνηση, και συνεπώς μειωμένη φωτοχημική δραστηριότητα. Η μείωση των τιμών F_v/F_m έχει συσχετιστεί με ανεπάρκεια θρεπτικών, όπως ο Fe (Roosta, 2014) και με διάφορες αβιοτικές καταπονήσεις, όπως η έλλειψη νερού (Gallé et al., 2007). Στην παρούσα εργασία ο δείκτης παρατηρήθηκε πως πήρε αρχικά χαμηλές τιμές, γεγονός που ενδέχεται να οφείλεται στην ενδεχόμενη δυσκολία προσαρμογής των φυτών στο περιβάλλον ενυδρειοπονίας εξίσου και για τις

δυο μεταχειρίσεις χωρίς να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά. Ωστόσο, μια εβδομάδα μετά την πρώτη κοπή του υπέργειου μέρους των φυτών καταγράφηκαν οι υψηλότερες τιμές του λόγου F_v/F_m , στις οποίες παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των μετρήσεων με υψηλότερες στα συστήματα με την τροφή control. Ο δείκτης PI_{total} είναι μία συνδυαστική παράμετρος που παρέχει 'πληροφορίες' σχετικά με το πλήθος των ενεργών κέντρων, τη μέγιστη ενεργειακή ροή που φτάνει στο κέντρο αντίδρασης του PSII αλλά και την ροή ηλεκτρονίων κατά την έναρξη του φωτισμού. Σύμφωνα με τα παραπάνω, ο PI_{total} θεωρείται δείκτης της συνολικής απόδοσης της φωτοσύνθεσης. Η συγκεκριμένη παράμετρος φαίνεται να διαφέρει στατιστικά σημαντικά μόνο την πρώτη εβδομάδα μετά την πρώτη κοπή των φυτών. Τέλος, η παράμετρος 1-VI, η οποία συνδέεται με το συνολικό απόθεμα των ενεργών κέντρων του φωτοσυστήματος I, ήταν σχετικά σταθερή και στις δυο μεταχειρίσεις, έχοντας αυξημένες τιμές καθ'όλη τη διάρκεια του πειράματος.

Η διαδρομή που θα ακολουθήσει το φως εφόσον έρθει σε επαφή με το φύλλο είναι περίπλοκη και μπορεί να ακολουθήσει διαφορετικές πορείες εφόσον συναντά ποικίλες επιφάνειες. Ένας μέρος της προσπίπτουσας ακτινοβολίας απορροφάται από τους ιστούς του φύλλου, άλλο το διαπερνά και ένα άλλο διαθλάται σε διάφορες κατευθύνσεις και ένα τελευταίο ανακλάται πίσω (Richardson D.A. et al., 2002). Ο δείκτης της *in vivo* ανακλαστικότητας PRI είναι χρήσιμος για την εκτίμηση του περιεχομένου των φωτοσυνθετικών χρωστικών και της ανάγκης προστασίας της φωτοσυνθετικής συσκευής αντίστοιχα (Sims & Gamon, 2002). Ο δείκτης PRI προκύπτει από τον λόγο της διαφοράς της ανακλαστικότητας στα 531 και 570 nm προς το άθροισμά τους και έχει ως εξής: $PRI = (R_{531} - R_{570}) / (R_{531} + R_{570})$. Η ανακλαστικότητα στα 531 nm συσχετίζεται με την ενεργότητα του κύκλου των ξανθοφυλλών, ενώ η ανακλαστικότητα στα 570 nm λαμβάνεται ως μήκος κύματος αναφοράς για τον προσδιορισμό του δείκτη. Επιπλέον, όταν ο δείκτης PRI εξετάζεται σε μικρή κλίμακα χρόνου (λεπτά) είναι ενδεικτικός της λειτουργικότητας του κύκλου των ξανθοφυλλών, ενώ σε μεγαλύτερη χρονική κλίμακα (ημέρες/εβδομάδες) μπορεί να αποτυπώνει τις αλλαγές στις δεξαμενές των συνολικών καροτενοειδών και χλωροφυλλών (Sims & Gamon, 2002). Σε πιο πρόσφατες μελέτες, πρωϊνές (predawn) και μεσημεριανές (midday) μετρήσεις του PRI χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό του ΔPRI. Η παράμετρος αυτή αφορά στις μεταβολές του δείκτη PRI και φαίνεται να αντανakλά τις μεταβολές των επιπέδων των ξανθοφυλλών ή της λειτουργικότητας του

αντίστοιχου κύκλου. Αρκετές έρευνες έχουν αποδείξει μία σημαντική συσχέτιση του PRI με τη φωτοσυνθετική απόδοση ορισμένων φυτικών ειδών (Κονάτ et al. 2018).

Τόσο οι πρωινές τιμές όσο και οι μεσημεριανές (επομένως και η διαφορά τους: ΔPRI) του δείκτη στην παρούσα εργασία δεν παρουσίασαν στατιστικές σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων. Ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι τιμές του PRI πριν την έκθεση σε φως τις πρώτες μέρες του πειράματος λόγω των πολύ χαμηλών τιμών ενώ κατά τη μεσημεριανή μέτρηση που εμφάνισαν αρνητικό πρόστιμο γεγονός όμως σύνηθες σύμφωνα με τους (Κονάτ et al., 2018). Ενδεχομένως, τις μεσημεριανές ώρες ο κύκλος των ξανθοφυλλών να είναι περισσότερο λειτουργικός και να υπάρχει μεγαλύτερη ανάγκη για φυτοπροστασία.

Τέλος, τα φαινολικά είναι οι πιο συχνά μελετημένες ενώσεις, εξαιτίας της παρουσίας τους σε υψηλές συγκεντρώσεις και του σημαντικού ρόλου τους σε φυτικά κύτταρα και ιστούς (Waterman & Mole, 1994; Latanzio et al., 2016). Αυτές οι ενώσεις θεωρούνται μεταξύ των σημαντικότερων χημικών 'όπλων' έναντι βιοτικών και αβιοτικών παραγόντων (Herms & Mattson, 1992). Τα φαινολικά μπορούν επίσης να συντεθούν *de novo* κατά τη διάρκεια των *in situ* αντιδράσεων άμυνας που περιλαμβάνουν τη συσσώρευση φυτοαλεξινών ή κατά τη διάρκεια της υπερευαισθησίας, μια συστηματική αντίδραση φυτών κατά των παθογόνων. Συγκεκριμένα, η συσσώρευση φαινολικών σχετίζεται με το δίλημμα ανάπτυξης vs. άμυνας. Η αποτελεσματική άμυνα απαιτεί σημαντικές ποσότητες αλυσίδων άνθρακα και ενέργειας για τη σύνθεση δευτερευόντων μεταβολιτών (μεταξύ των οποίων κυριαρχούν τα φαινολικά). Ως εκ τούτου, η αποτελεσματική άμυνα συνήθως επιβραδύνει την επενδύσεις σε άνθρακα και ενέργεια στις διαδικασίες ανάπτυξης. Για το λόγο αυτό, τα φυτά που βρίσκονταν σε καθεστώς άμυνας δείχνουν συνήθως χαμηλά ποσοστά ανάπτυξης (Herms & Mattson, 1992). Στην παρούσα έρευνα η συγκέντρωση των ολικών φαινολικών δεν παρουσίασε στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων. Όσον αφορά τα φύλλα, μεγαλύτερες συγκεντρώσεις παρατηρούνται κατά τις πρώτες μέρες του πειράματος παρ'όλα αυτά όμως δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές. Οι αυξημένες συγκεντρώσεις των φαινολικών κατά τις πρώτες ημέρες του πειράματος, δείχνουν μια εικόνα καταπόνησης όπως επιβεβαιώνεται και από τους δείκτες φθορισμού και ανακλαστικότητας της χλωροφύλλης, αυτό μπορεί να οφείλεται ενδεχομένως στην προσπάθεια των φυτών να προσαρμοστούν στις νέες συνθήκες ανάπτυξης.

Συμπερασματικά, δεδομένου ότι οι έρευνες στην ενυδραιοπονία που έχουν δημοσιευθεί έως τώρα είναι ελάχιστες σχετικά με τη φυσιολογία των φυτών από κάποιου είδους καταπόνηση. Ωστόσο, δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία από άλλες έρευνες σχετικά με την επίδραση ιχθυοτροφών εμπλουτισμένων με τσουκνίδα σε φυτά βασιλικού. Στην παρούσα έρευνα σε γενικές γραμμές δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στις περισσότερες μετρήσεις μεταξύ των μεταχειρίσεων. Συνεπώς, το συγκεκριμένο αντικείμενο είναι *πεδίο δόξης λαμπρόν για νέες έρευνες*.

Βιβλιογραφία

- Aquaponics NOMA (Nordic Marine), (2015). New Innovations for Sustainable Aquaculture in the Nordic Countries, Nordic Innovation Publication, [Online].
- Awad, E., & Austin, B. (2010). Use of lupin, *Lupinus perennis*, mango, *Mangifera indica*, and stinging nettle, *Urtica dioica*, as feed additives to prevent *Aeromonas hydrophila* infection in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *Journal of fish diseases*, 33(5), 413-420.
- Beauchamp, W. R., Pickens, J. M., Sibley, J. L., Chappell, J. A., Martin, N. R., and Newby, A. F. (2018). Salt Level in a Simulated Aquaponic System and Effects on Bibb Lettuce. *International Journal of Vegetable Science*, 24(2), 122-136.
- Benton, Jones Jr. (2005). Hydroponics, a practical guide for the soilless grower. CRC Press, 4-5, 120, 220.
- Binaii, M., Ghiasi, M., Farabi, S. M. V., Pourgholam, R., Fazli, H., Safari, R., ... & Bankehsaz, Z. (2014). Biochemical and hemato-immunological parameters in juvenile beluga (*Huso huso*) following the diet supplemented with nettle (*Urtica dioica*). *Fish & shellfish immunology*, 36(1), 46-51.
- Bosma, R.H., Lacambra, L., Landstra, Y., Perini, C., Poulie, J., Schwaner, M.J., Yin, Y. (2017). The financial feasibility of producing fish and vegetables through aquaponics. *Aquacult. Eng.* 78, 146-154
<https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2017.07.002>.
- Delaide, B., Delhay, G., Dermience, M., Gott, J., Soyeurt, H., and Jijakli, M. H. (2017). Plant and fish production performance, nutrient mass balances, energy and water use of the PAFF Box, a small-scale aquaponic system. *Aquacultural Engineering* 78, 130-139.
- Dhouibi, R., Affes, H., Salem, M. B., Hammami, S., Sahnoun, Z., Zeghal, K. M., & Ksouda, K. (2020). Screening of pharmacological uses of *Urtica dioica* and others benefits. *Progress in biophysics and molecular biology*, 150, 67-77.
- Diver, S., Rinehart, L. (2010). Aquaponics—Integration of Hydroponics with Aquaculture; ATTRA NCAT: Butte, MT, USA. 28.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), (2014). Small-scale aquaponic food production. Integrated fish and plant farming. *FAO Fisheries*

and Aquaculture Technical Paper, Rome, Italy.

- FAO-ONU. (2017). The future of food and agriculture: trends and challenges. In Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://doi.org/10.4161/chan.4.6.12871>
- Forchino, A.A., Lourguioui, H., Brigolin, D., Pastres, R., (2017). Aquaponics and sustainability: the comparison of two different aquaponic techniques using the LifeCycle Assessment (LCA). *Aquacult. Eng.* 77, 80e88. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2017.03.002>.
- Francis C, Lieblein G, Gliessman S, Breland TA, Creamer N, Harwood R, (2003): Agroecology: the ecology of food systems. *J. Sustain. Ag*, 22, 99-118.
- Francis, C., Lieblein, G., Gliessman, S., Breland, T.A., Creamer, N., Harwood, R., Salomonsson, L., Helenius, J., Rickerl, D., Salvador, R., et al. Agroecology: The Ecology of Food Systems. *J. Sustain. Agric*, 22, 99–118.
- Gamon, J., Penuelas, J. & Field, C. (1992). A narrow-waveband spectral index that tracks diurnal changes in photosynthetic efficiency. *Remote Sensing of environment*, 41, 35-44.
- Goddek, S. (2017). Opportunities and Challenges of Multi-Loop Aquaponic Systems. <https://doi.org/10.18174/412236>
- Goddek, S., Delaide, B., Mankasingh, U., Ragnarsdottir, K., V., Jijakli, H. and Thorarinsdottir, R. (2015). Challenges of Sustainable and Commercial Aquaponics. *Sustainability*, 7, 4199-4224. doi:10.3390/su7044199
- Keith, R. (2003). How- to Hydroponics. The Futuregarden Press, N.Y. 1-12.
- Knaus, U., and Palm, H. W. (2017). Effects of the fish species choice on vegetables in aquaponics under spring-summer conditions in northern Germany (Mecklenburg Western Pomerania). *Aquaculture*, 473, 62-73.
- Konig, B., Janker, J., Reinhardt, T., Villarroel, M., Junge, R., (2018). Analysis of aquaponics as an emerging technological innovation system. *J. Clean. Prod.* 180, 232-243. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.01.037>.
- Korhonen, J., Honkasalo, A., & Seppälä, J. (2018). Circular Economy: The Concept and its Limitations. *Ecological Economics*, 143, 37–46. <https://doi.org/10.1016/j.ecolecon.2017.06.041>
- Lehman H, Clark EA, Weise SF, (1993). Clarifying the definition of sustainable agriculture. *J. Agr. Environ. Ethic*, 6, 127-43.

- Lehman, H., Clark, E.A., Weise, S.F. (1993). Clarifying the definition of Sustainable agriculture. *J. Agric. Environ. Ethics*, 6, 127–143.
- Lennard, W. A., & Leonard, B. V. (2006). A comparison of three different hydroponic sub-systems (gravel bed, floating and nutrient film technique) in an Aquaponic test system. *Aquaculture International*, 14(6), 539–550. <https://doi.org/10.1007/s10499-006-9053-2>
- Love, D.C., Fry, J.P., Genello, L., Hill, E.S., Frederick, J.A., Li, X., Semmens, K., (2014). An international survey of aquaponics practitioners. *PLoS One* 9, 1-10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102662>.
- Love, D.C., Fry, J.P., Li, X., Hill, E.S., Genello, L., Semmens, K., Thompson, R.E., 2015a. Commercial aquaponics production and profitability: findings from an international survey. *Aquaculture* 435. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.09.023>.
- Maucieri, C., Nicoletto, C., Junge, R., Schmutz, Z., Sambo, P., Borin, M., (2018). Hydroponic systems and water management in aquaponics: a review. *Ital. J. Agron*, 13, 1-11 <https://doi.org/10.4081/ija.2017.1012>.
- McMurtry, M. R., D. C. Sanders, J. D. Cure, and R. G. Hodson. (1997). Effects of biofilter/culture tank volume ratios on productivity of a recirculating fish/vegetable co-culture system. *J Appl. Aquaculture*, 7(4), 33-51.
- McMurtry, M.R., Sanders, D.C., Cure, J.D., Hudson, R.G., Haning, B.C., Amand, P.C.S., (1997). Efficiency of water use of an integrated fish/vegetable co-culture system. *J. World Aquacult. Soc.* 28, 420-428. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1997.tb00290.x>.
- Molovan, I., Bala, M., (2015). Analysis of aquaponic organic hydroponics from the perspective of setting costs and of maintenance on substratum and floating shelves systems. *J. Hortic. For. Biotechnol.* 19.
- Ngugi, C. C., Oyoo-Okoth, E., Mugo-Bundi, J., Orina, P. S., Chemoiwa, E. J., & Aloo, P. A. (2015). Effects of dietary administration of stinging nettle (*Urtica dioica*) on the growth performance, biochemical, hematological and immunological parameters in juvenile and adult *Victoria Labeo* (*Labeo victorinus*) challenged with *Aeromonas hydrophila*. *Fish & shellfish immunology*, 44(2), 533-541.
- Palm, H.W., Knaus, U., Appelbaum, S., Goddek, S., Strauch, S.M., Vermeulen, T., Haïssam Jijakli, M., Kotzen, B., (2018). Towards commercial aquaponics: a review of systems, designs, scales and nomenclature. *Aquacult. Int.*

1e30.<https://doi.org/10.1007/s10499-018-0249-z>.

- Pattillo, D.A., (2017). An overview of aquaponic systems: hydroponic components. *NRAC Tech. Bull. Ser.* 19.
- Piedrahita, R. H. (2003). Reducing the potential environmental impact of tank aquaculture effluents through intensification and recirculation. *Aquaculture*, 226(1–4), 35–44. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(03\)00465-4](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(03)00465-4)
- Rakocy J.E., Master M.P., Losordo T.M. (2006). Recirculating aquaculture tank production system : Aquaponics – integrating fish and plant culture. SRAC publication no. 454. USDA
- Rakocy, J. E., Shultz, R. C., Bailey, D. S., & Thoman, E. S. (2004). Aquaponic production of tilapia and basil: Comparing a batch and staggered cropping system. *Acta Horticulturae*, 648, 63–69. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2004.648.8>
- Rakocy, J.E., 2003. Aquaponics dintegrating fish and plant culture. *Aquaculture Production Systems*, 343-386. <https://doi.org/10.1002/9781118250105.ch14>
- Rakocy, J.E., Bailey, D.S., Shultz, K.A., and Cole. W.M. (1997). Development of an aquaponic system for the intensive production of tilapia and hydroponic vegetables. *Aquaponics Journal*, 12-13.
- Rakocy, J.E., Bailey, D.S., Shultz, K.A., and Cole. W.M. (1997). Development of an aquaponic system for the intensive production of tilapia and hydroponic vegetables. *Aquaponics Journal*, 12-13.
- Rahman, S. S. A. (2010). Effluent Waste Characterization of Intensive Tilapia Culture Units and its Application in an Integrated Lettuce Aquaponic Production Facility. 1–93.
- Roosta, H. (2014). Comparison of the Vegetative Growth, Eco-Physiological Characteristics and Mineral Nutrient Content of Basil Plants in Different Irrigation Ratios of Hydroponic:Aquaponic Solutions. *Journal of Plant Nutrition*, 37(11), 1782-1803. DOI:10.1080/01904167.2014.890220
- Schmautz, Z., Loeu, F., Liebisch, F., Graber, A., Mathis, A., Bulc, T.G., Junge, R., (2016). Tomato productivity and quality in aquaponics: comparison of three hydroponic methods. *Water* 8, 1- 22. <https://doi.org/10.3390/w8110533>
- Tyson RV, Treadwell DD, Simonne EH. (2011). Opportunities and challenges to sustainability in aquaponic systems. *HortTechnol*, 21:6-13.
- Wongkiew, S., Hu, Z., Chandran, K., Lee, J.W., Khanal, S.K. (2017a). Nitrogen transformations in aquaponic systems: a review. *Aquacult. Eng*, 76, 9-19.

<https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2017.01.004>.

- Βουλτσιάδου, Ε., Αμπατζόπουλος, Θ., Αντωνοπούλου Ε., Γκάνιας Κ., Γκέλης, Σπ., κ.α.
(2015). Υδατοκαλλιέργειες οργανισμοί, συστήματα παραγωγής, προοπτικές.
Ελληνικά ηλεκτρονικά συγγράμματα και Βοηθήματα Κάλλιπος, 8.
- Μαυρογιαννόπουλος Γ.Ν., 2006. Υδροπονικές εγκαταστάσεις. Εκδόσεις Σταμούλη,
Αθήνα, 16-17.